

Fibrinopeptid A (FPA),
Fibrino-Cyano-Bromid 3
verwandtes Antigen (F-CB₃)
und Fibronectin (FN) im Plasma
von Karzinompatienten
mit und ohne Metastasierung

Heike Sigrid Peruth



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554619_0054

Aus der Medizinischen Klinik III im Klinikum Großhadern
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. W. Wilmanns

Fibrinopeptid A (FPA), Fibrino - Cyano - Bromid 3 verwandtes
Antigen (F - CB₃) und Fibronektin (FN) im Plasma von
Karzinompatienten mit und ohne Metastasierung

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Heike Sigrid Peruth

aus

Leipzig

Jahr

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. W. Wilmanns

Mitberichterstatter: Professor Dr. K. Überla

Professor Dr. M. Eder

Professor Dr. H. Goerke

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. med. W. Klaubert

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 7.5.1987

Für meine Eltern

Beieinander sein

Einfach so

Weil wir zusammengehören

Zeit haben

Viel Zeit

Sagen,

was wir fühlen

Hören,

was uns bedrückt

Sein dürfen, wie wir sind

Miteinander sein

Einfach so

weil wir zusammengehören

Familie-ein Glück

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Kapitel 1:	
Einleitung und Fragestellung	1
Kapitel 2:	
Physiologische und biochemische Grundlagen	2
2.1 Fibronektin (FN)	2
2.1.1 Stoffwechsel und Vorkommen	2
2.1.2 Proteinstruktur	3
2.1.3 Funktion und physiologische Bedeutung	3
2.2 Gerinnung	5
2.3 Fibrinolyse	5
2.4 Fibrino-Cyano-Bromid 3 (F-CB ₃)	7
Kapitel 3:	
Methodik	8
3.1 Patientenkollektiv	8
3.2 Blutentnahme und Verarbeitung der Blutproben	9
3.3 Bestimmung des Fibrinogens	10
3.4 Bestimmung des Fibrinopeptid -A (FPA)	11
3.5 Bestimmung des Fibronektins	13
3.5.1 Theoretische Grundlage und Aufbau der Behring-Laser-Nephelometrie	13
3.5.2 Bestimmung des Fibronektins mit der Behring -Laser-Nephelometrie	15
3.6 Bestimmung des F-CB ₃ verwandten Antigens	15
3.7 Bestimmung der Fibrin (-ogen) - Spaltprodukte (FDP)	16
3.8 Statistische Auswertung	16

Kapitel 4:	
Ergebnisse	18
4.1	Fibronektin - Spiegel bei Karzinompatienten 18
4.2	F-CB ₃ - Spiegel bei Karzinompatienten 27
4.3	Fibrinopeptid -A - Spiegel bei Karzinompatienten 28
4.4	Fibronektin -, Fibrinogen -, FDP - Spiegel bei operativen Eingriffen 30
4.4.1	Korrelation von Fibrinogen - Spiegeln und FDP - Spiegeln 34
4.5	Korrelationen von FPA -, F-CB ₃ , FBG - und FN - Spiegeln bei Karzinompatienten 34
Kapitel 5:	
Diskussion	39
Kapitel 6:	
Zusammenfassung	43
Literaturverzeichnis	44

Kapitel 1

Einleitung

Eine erhöhte Inzidenz thromboembolischer (12,62,63,80) und fibrinolytischer (4,18,19,67) Komplikationen bei Tumorkranken ist bekannt. Dabei spielt die Freisetzung von Proteasen aus Karzinomzellen eine wichtige Rolle (13,15,17,49,59). Entsprechende Beobachtungen wurden in Kulturen von Zellen, die in vitro maligne transformiert wurden sowie in Kulturen von Tumorzellen, gemacht (64,71,81). Ein Teil dieser Proteasen stimuliert die Gerinnung und die Fibrinolyse (62,63, 80) und führt bei vielen Karzinompatienten zu einem erhöhten Fibrinogen - Umsatz (13,20,69,77).

Das Fibrinopeptid A, ein Parameter für abgelaufene Gerinnungsaktivierung ist deshalb auch ohne manifeste Thrombose bei Tumorkranken häufig erhöht (1,22,67,88). Dabei hat sich FPA auch als Tumor - Verlaufparameter bewährt (1,22,36,65,70).

Ein Parameter zur Beurteilung der Fibrinogenolyse ist das F-CB₃. Es hat sich als wertvoller Test zur Beurteilung normaler und gesteigerter fibrinogenolytischer Aktivität erwiesen (26,28). Erhöhte F-CB₃ - Spiegel waren deshalb bei Tumorkranken zu erwarten (28).

Neben der Freisetzung von Proteasen wurde in den Kulturen maligner transformierter Zellen auch eine vermehrte Freisetzung von Fibronectin aus der Zelloberfläche beobachtet (37,39,82). Fibronectin kommt in löslicher Form auf Zelloberflächen vor.

Die Ursache des Verlustes der Zelladhäsion maligner Zellen wird zum Teil auf den Verlust von Oberflächenzellfibronectin zurückgeführt (83). Auch scheint Fibronectin bei der Tumorprogression und der Metastasierung eine wichtige Rolle zu spielen, wobei seine Rolle im einzelnen noch nicht geklärt ist.

Es war das Ziel der vorliegenden Arbeit, zu untersuchen, inwieweit die fibrinogenolytische Aktivität und die Plasma - FN - Spiegel bei Karzinompatienten erhöht sind, und ob die Metastasierung auf die Fibrinolyseaktivität und die FN - Spiegel im Plasma von Tumorkranken einen Einfluß hat.

Kapitel 2

Physiologische und biochemische Grundlagen

2.1 Fibronektin

Das Glykoprotein Fibronektin wurde erstmals 1948 unter dem Namen "Cold Insoluble Globulin (CIG)" als Bestandteil der Cohnschen Plasmafraktion I beschrieben (51). 1970 wurde von Ruoslahti und Vaheri das "fibroblast surface antigen" in einer Studie über die Oberflächenproteine sowohl dort, als auch im Plasma entdeckt (73). Später entstand der Name Fibronektin (44). Er weist auf die Eigenschaft des Moleküls hin, Faserproteinen, wie Fibrin und Kollagen zu binden (31,34).

2.1.1 Stoffwechsel und Vorkommen

Fibronektin wird überwiegend in den Hepatozyten (30), aber auch von Fibroblasten, Endothelzellen und epithelialen Zellen synthetisiert (52). Es wird zwischen dem unlöslichen Fibronektin in der Matrix des Bindegewebes, den Basalmembranen und auf den Zelloberflächen und dem löslichen Fibronektin im Plasma und allen anderen Körperflüssigkeiten unterschieden (29,40,74).

Zwischen dem Zelloberflächen - Fibronektin und dem Plasma - Fibronektin besteht eine weitgehende immunologische Identität (33, 86). Plasma - Fibronektin hat ein Molekulargewicht MG von 440 kD (6). Beim Oberflächenfibronektin handelt es sich um Multimere des im Plasma vorhandenen Fibronektins (47,50,55). Fibronektin kann mit Fibrin (25, 61,72), Kollagen (24,75), anderen Makromolekülen (23), und Bakterien Verbindungen eingehen.

2.1.2 Proteinstruktur

Das Fibronectin - Molekül mit einem Molekulargewicht (MG) von etwa 440.000, besteht aus zwei fast identischen Untereinheiten, die durch zwei Disulfidbrücken miteinander verbunden sind (53,58) (siehe Abb.1).

Im NH₂ -terminalen Bereich befinden sich Bindungsstellen für Fibrin, Ac-tin (41), Staphylokokkus aureus (54) und Heparin (75). Daran schließt sich die Kollagen bindende Region an (72,84). Im mittleren Teil sind die Bindungsstellen für die Zelloberflächenbindung (75). Im COOH - termi-nalen Ende des Moleküls befinden sich Bindungsstellen für Heparin und Fibrin(ogen).

2.1.3 Funktion und physiologische Bedeutung

Das Zelloberflächen - Fibronectin ist für die Zelladhäsion von großer Bedeutung. Beim Verlust des Zelloberflächenfibronektins kommt es mit dem Verlust der Zelladhäsion zur Änderung der Zellmorphologie (83).

Das gelöste FN hat vorwiegend die Aufgabe eines Opsonis. Es bindet im Blut und im Gewebe anfallende Substanzen (z.B. Fibrinmonomere) und fördert ihre Phagozytose durch das RES.

Bei der Bildung von quervernetztem Fibrin (57) wird Fibronectin mit in das Gerinnsel eingebaut (56). Lokale oder disseminierte intravasale Gerinnungsstörungen führen deshalb auch zu einem Verbrauch von Fibronectin.

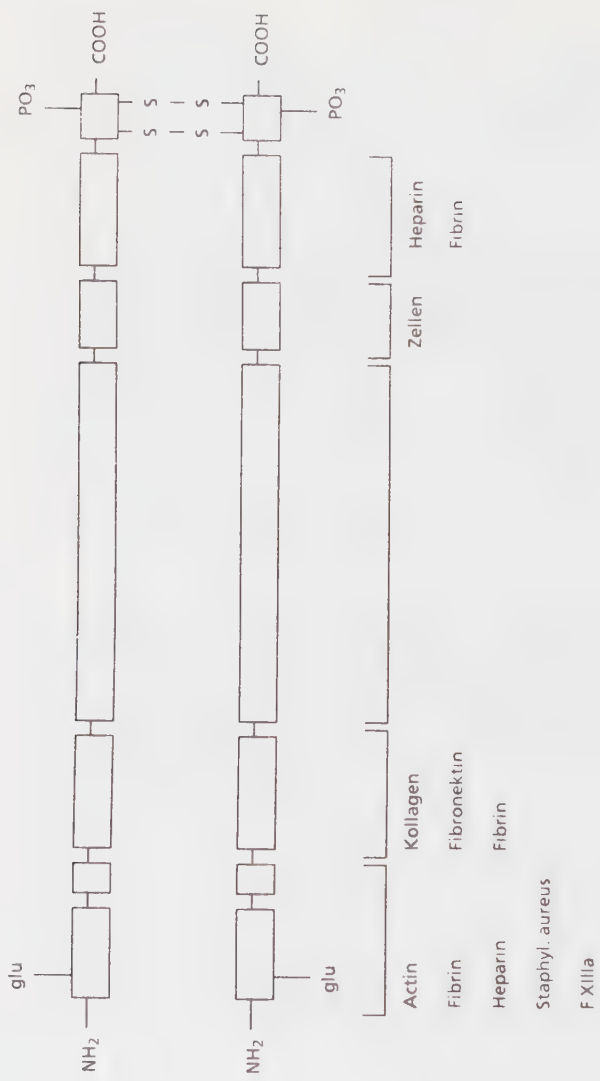


Abb. 1: Schematische Darstellung der Struktur des Plasmafibronektins (Modifiziert nach Vartio (84))

2.2 Die Gerinnung

Die Blutgerinnung besteht aus einer Kette enzymatischer Reaktionen. Das Ende der Reaktionskette ist die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin (Abb. 2). Die erste Phase der Gerinnung ist die Bildung eines Prothrombinaktivators. Dies geschieht entweder über das "Extrinsic - System" (Aktivierung durch Verletzung von Endothel - und Gewebezellen) oder über das " Intrinsic - System" (Auslösung durch den Kontakt des Hagemann - Faktors (F XII)). Über die gemeinsame Endstrecke beider Systeme kommt es zur Aktivierung des Faktors X (21).

Die zweite Phase ist die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin in Anwesenheit von Ca^{2+} .

In der dritten Phase spaltet Thrombin durch limitierte Proteolyse die Fibrinopeptide A und B vom N - terminalen Ende des Fibrinmoleküls ab (9). Fibrinopeptid A ist deshalb ein äußerst sensibler Parameter für abgelaufene Thrombinaktivität. Durch die Abspaltung kommt es zur Bildung von Fibrinmonomeren (7). Diese können sich zu höhermolekularen Fibrinpolymeren zusammenlagern, die in 5 - molarer Urea noch löslich sind und als Fibrin_s (soluble) bezeichnet werden.

Durch Thrombin wird in Anwesenheit von Ca^{2+} gleichzeitig F XIII zu F XIIIa aktiviert. F XIIIa führt zur Ausbildung kovalenter Verbindungen zwischen den Fibrin - Molekülen im Bereich des C-terminalen Endes der γ - und der α - Ketten. Dieses quervernetzte Fibrin (insoluble) ist in 5 - molarem Harnstoff nicht mehr löslich (68).

2.3 Die Fibrinolyse

Der Gerinnung steht die Fibrinolyse gegenüber. Beide Systeme halten sich das Gleichgewicht. Durch Gewebe - und Blutaktivatoren wird analog dem Gerinnungsvorgang Plasminogen zu Plasmin und damit die Fibrinolyse aktiviert (4).

Der proteolytische Abbau von Fibrin und Fibrinogen erfolgt durch Plasmin primär am C - terminalen Ende der α - Kette des Fibrin(ogen)s. Dabei entstehen α - Kettenbruchstücke, die als F-CB₃ verwandtes Antigen gemessen werden können (siehe 2.4).

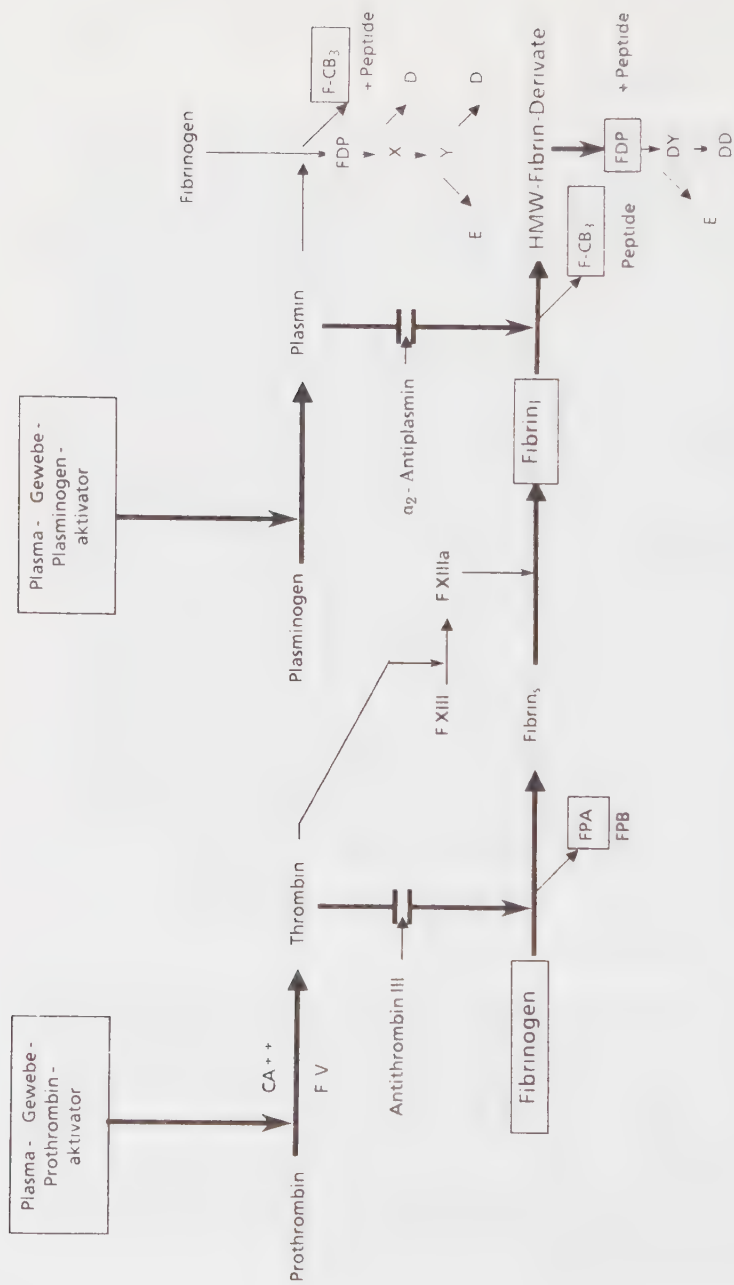


Abb.2: Gerinnungs- und Fibrinolyse Schema

Das F-CB₃ verwandte Antigen ist somit ein guter Parameter für abgelaufene Fibrin (ogen)olyse. Das durch den α -Kettenabbau entstandene Molekül entspricht dem Fragment X mit einem MG von 240000 und ist überwiegend noch gerinnbar.

Durch weitere Spaltung entstehen die Abbauprodukte Y und D. Y wird nochmals in ein D- und ein E-Fragment abgebaut. (48).

Die Fibrinolyse von quervernetztem Fibrin verläuft ähnlich. Aufgrund der Vernetzung von je zwei D-Fragmenten miteinander entsteht als Endprodukt das DD-, sowie ein E-Fragment (Abb. 2).

2.4 F-CB₃

Bei der Spaltung von Fibrinogen mit Cyano-Bromid entstehen fünf Peptide:

Fibrino-Cyano-Bromid 1, 2, 3, 4 und 5 (F-CB₁₋₅) (27).

Das Bruchstück F-CB₃ entspricht dabei einem Abschnitt der A α -Kette des Fibrinogens (28). Bei der Fibrin(ogen)olyse beginnt der Plasmin induzierte Abbau des Fibrin(ogen)s am COOH-terminalen Ende der A α -Kette. Dabei werden frühzeitig Bruchstücke aus diesem Bereich abgespalten. Mit Hilfe der Bestimmung des F-CB₃ kann eine gute Aussage über abgelaufene fibrin(ogen)olytische Aktivität gemacht werden.

Kapitel 3

Methodik

3.1 Patientenkollektiv

Von Juni 1983 bis Februar 1984 wurden alle Patienten mit einer malignen Erkrankung aus der III. Medizinischen Klinik des Klinikums Großhadern in die Studie aufgenommen. Es handelt sich dabei um 160 Patienten mit malignen Erkrankungen (150 Karzinome, 10 Sarkome) bei denen jeweils eine Blutprobe entnommen wurde. Die Patienten wurden in der Reihenfolge ihres Erscheinens eingeordnet. Ausgeschlossen wurden Patienten bei denen:

- 1) Eine Chemotherapie, eine radiologische oder operative Therapie innerhalb eines Jahres vor der durchgeführten Untersuchung stattgefunden hatte.
- 2) Computertomographisch oder sonographisch nachweisbare Lebermetastasen oder eine Cholinesterase Leber ≥ 3000 U / l vorlag.
- 3) Der Quick - Wert $< 70\%$ war und die Fibrinogen - Spiegel in den letzten 2 Wochen im pathologischen Bereich lagen.
- 4) Eine Temperaturerhöhung $> 38^{\circ}\text{C}$ vorlag.

Als Vergleichskollektiv wurden 25 gesunde Probanden mit gleicher Alters - und Geschlechtsverteilung untersucht. Die Entscheidung, ob bei den Patienten ein Solitär Tumor oder ein Tumor mit Fernmetastasierung vorliegt, wurde mit Hilfe der in Tab. 6 (Seite 38) aufgeführten Untersuchungen getroffen.

Zusätzlich wurden Plasmaproben untersucht, die im Rahmen einer inaugural Dissertation von Frau Dr. Agster (2) bei 14 Patienten mit nicht malignen Erkrankungen und bei 16 Patienten mit Karzinomen entnommen worden waren. Im Durchschnittsalter, in der Geschlechtsverteilung und in den durchgeführten Operationen insbesondere der Operationsdauer entsprachen sich beide Patientenkollektive. Blutproben waren entnommen worden:

Vor, 1 Stunde und 3 Stunden nach Operationsbeginn, sowie 1 und 8 Tage nach der Operation.

3.2 Blutentnahme und Verarbeitung der Blutproben

Aus der Vena cubitalis wurden 9 ml Blut mit einer 10 ml Einmalspritze, die 1 ml eines speziellen Antikoagulans (Citrat - EDTA - Trasylol - Gemisch *) enthielt, entnommen. Dabei wurde darauf geachtet, daß die Stauungszeit der Vena cubitalis weniger als 15 Sekunden betrug, da bei Vorversuchen die Fibronektinspiegel bei längeren Stauungszeiten höhere Werte zeigten.

Durch sofortiges mehrmaliges Kippen erfolgte eine gleichmäßige Durchmischung. Unmittelbar nach der Entnahme wurden die Proben bei 25°C und 3000 U / min 20 Minuten lang zentrifugiert. Danach wurde das so gewonnene Plasma in 1 ml Portionen bei -80°C eingetroren. Vor den durchzuführenden Bestimmungen wurde das Plasma im Wasserbad bei 25°C aufgetaut.

- *) Antikoagulantienlösung (pH: 7,4):
0,129 m Tri-Na-citrat (Merck, p.a. Nr. 6448)
0,06 m TES (Tris - (Hydroxymethyl) - methyl - 2 - aminoäthan - Sulfonsäure) (Serva, p.a. Nr. 37199)
0,05 m EDTA (Merck, p.a. Nr. 8418)
4000 KIE / mL Trasylol (Bayer Leverkusen / T 653)

3.3 Bestimmung des Fibrinogens (FBG)

Die Bestimmung des gerinnbaren Proteins (FBG) erfolgte nach Hörmann und Gollwitzer (35) in Anlehnung an die Methode von Blombäck (10), und in einer Modifikation von Hafter und Graeff (32). Es wurden Doppelbestimmungen durchgeführt:

Material:

- Calciumchlorid (0,025 mol / l)
- Aprotinin (Trasylol, Bayer Leverkusen)
- Topostasin (Hoffmann-La Roche')
- NaCl 0,9 %
- Alkalische Harnstofflösung 40 % (400 g Harnstoff + 100 ml 2n NaOH ad 1000 ml aqua bidest)
- Wasserbad (37 °C)
- Pipetten
- Photometer (Beckmann Spectralphotometer Mod. 35)
- Plastikhäkchen (Behring)

Testdurchführung

0,5 ml Plasma wird mit 0,2 ml CaCl_2 , 0,2 ml Trasylol und 0,1 ml Topostasin (60 IE) versetzt. Nach kräftigen Durchmischen wird das Gemisch bei 37 °C 30 Minuten inkubiert. Durch Polymerisation entsteht ein gallertartiges Gerinnsel. Dieses Fibringerinnsel wird mit Hilfe eines Plastikhäkchens entnommen, ausgedrückt und zweimal mit isotoner Kochsalz-lösung gewaschen. Danach wird der Clott in 5 ml alkalischer Harnstoff-lösung gelöst. Nach einer Stunde wird die, durch das gelöste Fibrin ent-standene, optische Dichte in einer Quarzküvette bei 280 nm und 325 nm gegen eine Blindlösung gemessen.

Auswertung

Der Anteil des gerinnbaren Proteins im Plasma wird aus der Differenz der Extinktionswerte bei 280 nm und 325 nm berechnet:

$$\text{FBG (gerinnbar) (mg / dl) = } E_{280-325 \text{ nm}} \times 691,8$$

Der Faktor 691,8 errechnet sich aus dem Extinktionskoeffizienten für Fibrinogen in alkalischer Harnstofflösung (nach Hörmann und Gollwitzer (35)) und dem Korrekturfaktor zur Kompensation der Verdünnung der Blutprobe durch Antikoagulans.

Der Fibrinogen - Normalbereich beträgt 150 - 350 mg/dl (76).

3.4 FPA - Bestimmung

Fibrinopeptid A wurde radioimmunologisch mit dem Testkit der Firma Byk - Mallinckrodt gemessen. Dieser 1971 von Nossel entwickelte Radio - Immun - Essay wurde, da er für den klinischen Gebrauch zu aufwendig war, mehrfach modifiziert (42,43,60).

Testprinzip:

Die mit Bentonit defibrinogenisierten Plasmaproben werden mit einer definierten Menge von ^{125}J - markierten FPA versetzt, welches dann mit dem, im Plasma unmarkierten, FPA um die Bindungsstelle des zugesetzten Antikörpers konkurriert. Je höher die FPA - Konzentration in der Probe ist, desto mehr unmarkiertes FPA geht in die Ag - Ak - Komplexbildung ein.

Das an den Antikörper gebundene FPA wird nun mit Hilfe eines zweiten Antikörpers präzipitiert und von überschüssigen, freien ^{125}J - FPA abgetrennt und die Aktivität mit einem γ - Szintillationszähler bestimmt. Mit zunehmender FPA - Konzentration in der Untersuchungssprobe nimmt deshalb die Aktivität des Präzipitats, die gemessen wird, ab. Die Plasmakonzentration von FPA wird über eine Standardkurve ermittelt. Es wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

Material:

-Test - Kit:

- a) ^{125}J - FPA mit einer Gesamtaktivität um 370 kBq
- b) FPA - Standards in BSA - Puffer in den Konzentrationen 0 - 40 mg FPA /ml
- c) FPA - Antiserum von Kaninchen
- d) Zweiten Antikörper - Polyäthylen - Glykol - Lösung
- e) Bentonit - Suspension

f) Non - specific Binding (NSB) Pufferlösung zur Bestimmung der unspezifischen Bindung

g) FPA Kontrollreagenzien mit normalen und erhöhten FPA - Gehalt

Kontrolle A: Aktivitätsbereich 0,9 - 1,7 ng / ml

Kontrolle B: Aktivitätsbereich 6,2 - 9,0 ng / ml

-Laborgeräte:

-Teströhrchen 12 x 75 mm aus Polypropylen

-Gammaszinillationszähler (Liquid Scinillationszähler Packard TRI (CARB)

-Zentrifuge mit mindestens 1000 xg

Testdurchführung:

Vorbehandlung der Proben:

Je 500 μ l der Plasmaproben werden mit 1 ml Bentonitsuspension mittels Vibrationsmischer versetzt. Anschließend werden die Röhrchen 30 Minuten mit 1000 xg zentrifugiert, danach die Überstände abpipettiert. Wir haben die Überstände der Proben im Verhältnis 1:2 mit 50 mmol Trispufferlösung pH 7,5 verdünnt, da wir FPA - Werte über der Nachweisgrenze von 40 ng / ml erwartet haben.

Testablauf:

Nach Erwärmen aller Testkomponenten auf 25°C werden in Doppelan-sätzen zu jeweils 200 μ l Plasma 100 μ l 125 J - FPA pipettiert und beides durchmischt. Nach Zugabe von 100 μ l FPA - Antiserum werden die Röhrchen erneut mit einem Vibrationsmischer kräftig gemischt. Die Röhrchen werden mit Parafilm abgedeckt und bei 25°C für 120 Minuten inkubiert. Danach setzt man, nach Aufschütteln, je 1 ml der 2. Antikörper - Polyäthylen - Glykol - Lösung zu jedem Röhrchen zu und kräftig durchmischt. Nach 30 minutiger Zentrifugation bei 1000 x g werden die radioaktiven Überstände abpipettiert und verworfen. Um eine restlose Entfernung von nicht gebundenem 125 J - FPA zu erreichen, werden die Teströhrchen für etwa 10 Minuten mit der Öffnung nach unten auf Fließpapier gestellt und eventuell noch an den Gefäßwänden vorhandene Tropfen mit Watteträgern entfernt. Danach erfolgt die Bestimmung der Restaktivität im Gammaszintillationszähler.

Auswertung:

Zuerst wird zu jeder Serie von Plasmabestimmungen eine Standardkurve erstellt. Von den gemessenen Counts der Standard - und Probenlösungen (P) wird ein Nullwert (N = unspezifische Aktivität) abgezogen. Die so ermittelte Differenz (P - N) wird dann in Prozent der Zählrate des Nullstandards (P₀ - N) umgerechnet.

Diese Zählrate entspricht der Maximalbindung von ¹²⁵J - FPA.

$$\frac{P - N}{P_0 - N}$$

gibt darin den Anteil von gebundenen ¹²⁵J - FPA in Anwesenheit von FPA der Plasmaprobe wieder. Die Standardkurve wird auf der linearen Achse auf semilogarithmischen Millimeterpapier aufgetragen. An Hand dieser Kurve sind die Konzentrationen der Plasmaproben abzulesen.

Der Fibrinopeptid A - Normalbereich beträgt 0 - 8 ng / ml.

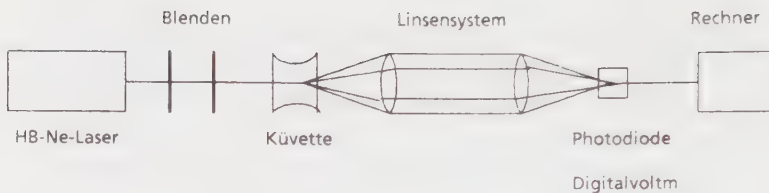
3.5 Bestimmung von Fibronektin

3.5.1 Theoretische Grundlagen und Aufbau der Behring - Laser - Nephelometrie

Die Grundlage der Laser - Nephelometrie ist die Messung von Streulicht in einem definierten Winkelbereich. Dazu ist es notwendig, ein monochromatisches Licht mit geringer Strahlendifferenz zu erzeugen. Dieses wurde durch ein Helium - Neon - Gasgemisch in der Laserröhre erreicht. Beim Übergang in einen niedrigeren Energiezustand emittiert dieses Gemisch Licht mit einer Wellenlänge von 632,8 nm.

Falls dieses Licht auf Partikel trifft, entsteht ein, diffus im Raum verteiltes, Streulicht, das über das Laser - Nephelometer gemessen wird. Je nach Partikelgröße und Wellenlänge ergeben sich charakteristische Intensitätsverteilungen des Streulichtes.

Dieses Streulicht wird über ein Linsensystem und eine Photodiode weitergeleitet und verstärkt.



Strahlengang beim Behring - Laser - Nephelometer

Das Hauptanwendungsgebiet des Laser - Nephelometers ist die quantitativ immunologische Bestimmung von Proteinen im Serum und anderen Körperflüssigkeiten unter Verwendung spezifischer Antisera. Durch die Verwendung von spezifischen Antisera gegen Humanplasmae Proteine kommt es zur Bildung von schwerlöslichen Immunkomplexen. Diese Komplexe erzeugen das jeweilige charakteristische Streulicht.

Allgemeine Vorbereitung für die Testdurchführung

Material

- LN - Protein - Standard - Serum
- NaCl 0,9%
- Lipoclean (Behring)
- Einwegküvetten für LN (Behring)
- Pipetten
- Wärmebad 25°C

Vorbereitung für die Testdurchführung:

Für jedes zu bestimmende Protein wird eine eigene Referenzkurve mit Hilfe des entsprechenden LN - Standards erstellt. Die LN - Antisera werden einheitlich 1 : 5 mit NaCl 0,9% verdünnt. Das Patientenplasma wird vor Verwendung mit Lipoclean gereinigt. Patientenplasma und Lipoclean werden im Verhältnis 1 : 1 10 Minuten vermischt, dann mit 3000 U / min bei 25°C 20 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird abgenommen und zur Bestimmung mit dem LN verwendet. Die so gereinigten Patientenplasmen müssen je nach gewünschter Bestimmung mit NaCl 0,9% verdünnt werden.

Der gesamte Versuchsablauf wird bei 23°C - 26°C durchgeführt. Die

Qualitätskontrolle wird mit den jeweiligen Kontrollseren bzw. Kontrollplasmen durchgeführt, wobei ein Abweichen von $> 0,5\%$ des Sollwertes nicht mehr akzeptiert wird.

3.5.2 Bestimmung des Fibronektins (FN) mit dem LN

Material

- LN - Antiserum gegen Human - Plasmaprotein Nr. 143012B
- LN - Protein - Standard - Plasma Nr. 041109 (Sollwert 26,0 mg / dl)

Testdurchführung

Zu je 5 μ l Probenplasma werden 500 μ l NaCl 0,9% pipettiert und gut durchmischt. Für die Referenzkurve wird das LN - Protein - Standard Plasma mit NaCl 0,9% auf 1 : 10 , 1 : 20 , 1 : 40 , 1 : 60 , 1 : 320 verdünnt. Zu 200 μ l Antiserumverdünnung wird 100 μ l Plasmaverdünnung gegeben, gut vermischt und 1 Stunde bei 25°C inhubiert. Der Gehalt an FN wird nach Bestimmung mit dem Laser Nephelometer vom Rechner in mg / dl direkt abgelesen.

Die FN - Bestimmungen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt.

Der Fibronektin - Normalwert beträgt 25 - 40 mg/dl (55).

3.6 Bestimmung des F-CB3 verwandten Antigens

Das F-CB₃ verwandte Antigen wurde mit Hilfe eines Radioimmunassays bestimmt. Der Antikörper wurde von Frau Dr. Gollwitzer (Max - Planck - Institut, München) zur Verfügung gestellt. Als Untersuchungsmaterial wurde das bei der Bestimmung des Fibrinogens (siehe 3.3) gewonnene Serum verwendet.

Die Markierung des F-CB₃ -Ak mit ¹²⁵I und die Durchführung des Radioimmunassays wurde unter Hilfestellung von Frau Dr. Gollwitzer nach der von ihr beschriebenen Methode (27) ausgeführt. Die Auswertung erfolgt über einen computerunterstützten Scanner der Firma LKB. Der FCB₃ - Normalwert ist ≤ 40 pmol/ml (27).

3.7 Bestimmung der Fibrin (ogen) - Spaltprodukte (FDP)

Die Ermittlung der FDP - Werte erfolgte mit dem Staphylokokken - Clumpiny - Test (SCT) unter Verwendung von "FSP - Testbesteck" der Firma Behring.

Testprinzip

In Gegenwart von Fibrinogen, Fibrinmonomeren und der Spaltprodukte X und Y agglutinieren Staphylokokkenstämme. Das Präzipitat wird sichtbar.

Testdurchführung

Nach geometrischer Verdünnung des Serums und Zugabe der gleichen Menge der Staphylokokkensuspension wird beides durchmischt. Der Titer entspricht der höchsten Verdünnung, die noch eine positive Verklumpungsreaktion ergibt.

Der FDP - Normalwert ist $\leq 10 \text{ g/ml (76)}$.

3.8 Statistische Auswertung

Zunächst wurden die Mittelwerte (MW) und die einfachen Standardabweichungen (SD) berechnet.

Statistische Auswertung der OP - Verläufe:

Aus den Mittelwerten und den zugehörigen Standardabweichungen wurden Verlaufskurven erstellt. Ob sich im Beobachtungszeitraum signifikante Unterschiede in Bezug auf die Ausgangswerte nachweisen lassen, und ob ein signifikanter Niveauunterschied zwischen Patienten mit maligner Grunderkrankung und ohne maligne Grunderkrankung erkennen läßt, war Ziel der statistischen Auswertung.

Die Längsschnittstudie erfolgte mit dem "Wilcoxon Matched - Pairs signed - Ranks Test " für verbundene Stichproben.

Dabei wurde dem Wert vor der Operation der Wert 8 Tage nach der Operation gegenübergestellt.

Statistische Auswertung der 160 Tumorpatienten.

Zur Entscheidung, ob sich ein signifikanter Unterschied zwischen metastasierten und nicht metastasierten Karzinomen in Bezug auf die F-CB₃ - bzw. FN - Spiegel ergibt, wurde der t - Test für unverbundene Stich-proben angewandt, nachdem der Test auf gleiche Varianzen durchgeführt worden war. Damit sollte geprüft werden, ob ein Unterschied der Stichprobenvarianzen noch als zufällig angesehen werden kann oder ob er signifikant, dh. auf unterschiedliche Parameter zurückzuführen ist

(F - Test).

Zur Entscheidung welcher Zusammenhang zwischen zwei Variablen (z.B. FN und F-CB₃) besteht, verwendeten wir die Korrelationsstatistik. Als Voraussetzung dazu erfolgte der Test auf Normalverteilung. Falls die Variablen normal verteilt sind und der Zusammenhang linear ist, kann der Korrelationskoeffizient berechnet werden:

$$R = \frac{(x_i - \bar{x}) (y_i - \bar{y})}{(n - 1) S_x S_y}$$

($x_i - \bar{x}$) Abweichung jedes x - Wertes von seinem Mittelwert

($y_i - \bar{y}$) Abweichung jedes y - Wertes von seinem Mittelwert

S_x Standardabweichung der x - Werte

S_y Standardabweichung der y - Werte

Bei der Interpretation der Korrelationskoeffizienten ($-1 \leq r \leq 1$) ist die Wahrscheinlichkeit eines Zusammenhanges zwischen den zu untersuchenden Parametern umso größer, je näher der Korrelationskoeffizient r an dem Wert 1 bzw. -1 liegt. Allerdings hängt die Bedeutung dieses Zusammenhanges von der Fallzahl n und der zu untersuchenden Problematik ab. Um eine sichere Aussage über die Bedeutung der gefundenen Korrelationskoeffizienten zu bekommen, muß die Signifikanz des Korrelationskoeffizienten geprüft werden (nach E. Weber) (85).

Kapitel 4

Ergebnisse

4.1 Fibronektin - Spiegel bei Karzinompatienten

In Abb. 3 sind die bei 150 Karzinomen bestimmten Mittelwerte der Plasma - Fibronektin - Konzentration mit der jeweiligen Standardabweichung wiedergegeben. Zusätzlich ist das Signifikanzniveau angegeben, mit dem sich die Fibronektin - Spiegel der nicht metastasierten von den metastasierten Karzinomen unterscheiden.

Unterteilt man die Karzinompatienten in eine Gruppe ohne ($n = 79$) und eine Gruppe mit ($n = 71$) Metastasen, so erhält man für die metastasierte Gruppe mit $52,2 \pm 12,4$ mg / dl einen signifikant ($p < 0,05$) höheren Mittelwert im Vergleich zu der nicht metastasierten Gruppe mit $37,4 \pm 8,1$ mg / dl. Die Zusammenfassung der einzelnen Karzinompatienten nach der Lokalisation des Primärtumors ergibt für die Gastrointestinalen -, Mamma -, Bronchial -, Hoden - und Ovarial - Karzinome jeweils eine ausreichend große Untergruppe für eine statistische Auswertung. Die Werte für die übrigen 12 Karzinompatienten sind in Tab. 5 wiedergegeben.

Im nicht metastasierten Tumorstadium liegen die Fibronektin - Mittelwerte der Gastrointestinalen Karzinome mit $39,6 \pm 7,5$ mg / dl, der Mammakarzinome mit $39,2 \pm 7,7$ mg / dl, der Hodenkarzinome mit $29,8 \pm 4,7$ mg / dl und der Ovarialkarzinome mit $27,8 \pm 6,1$ mg / dl im Normalbereich. Der Mittelwert für die Bronchialkarzinome ist mit $44,5 \pm 10,3$ mg / dl geringfügig erhöht (Tab. 1) Die zusätzliche Aufschlüsselung der Bronchialkarzinome und der Gastrointestinalen Karzinome nach der Histologie (in Abb. 3 und Tab. 1 nicht angegeben) ergibt folgende Fibronektin - Mittelwerte: Für die kleinzelligen Bronchialkarzinome ($n = 8$) $44,5 \pm 5,7$ mg / dl, für die großzelligen Bronchialkarzinome ($n = 3$) $45,0 \pm 5,7$ mg / dl; für die Rektum / Kolon - Karzinome ($n = 16$) $38,4 \pm 4,3$ mg / dl; für die Magenkarzinome ($n = 5$) $37,5 \pm 2,1$ mg / dl und für die Ösophaguskarzinome ($n = 4$) $45,5 \pm 12,6$ / dl.

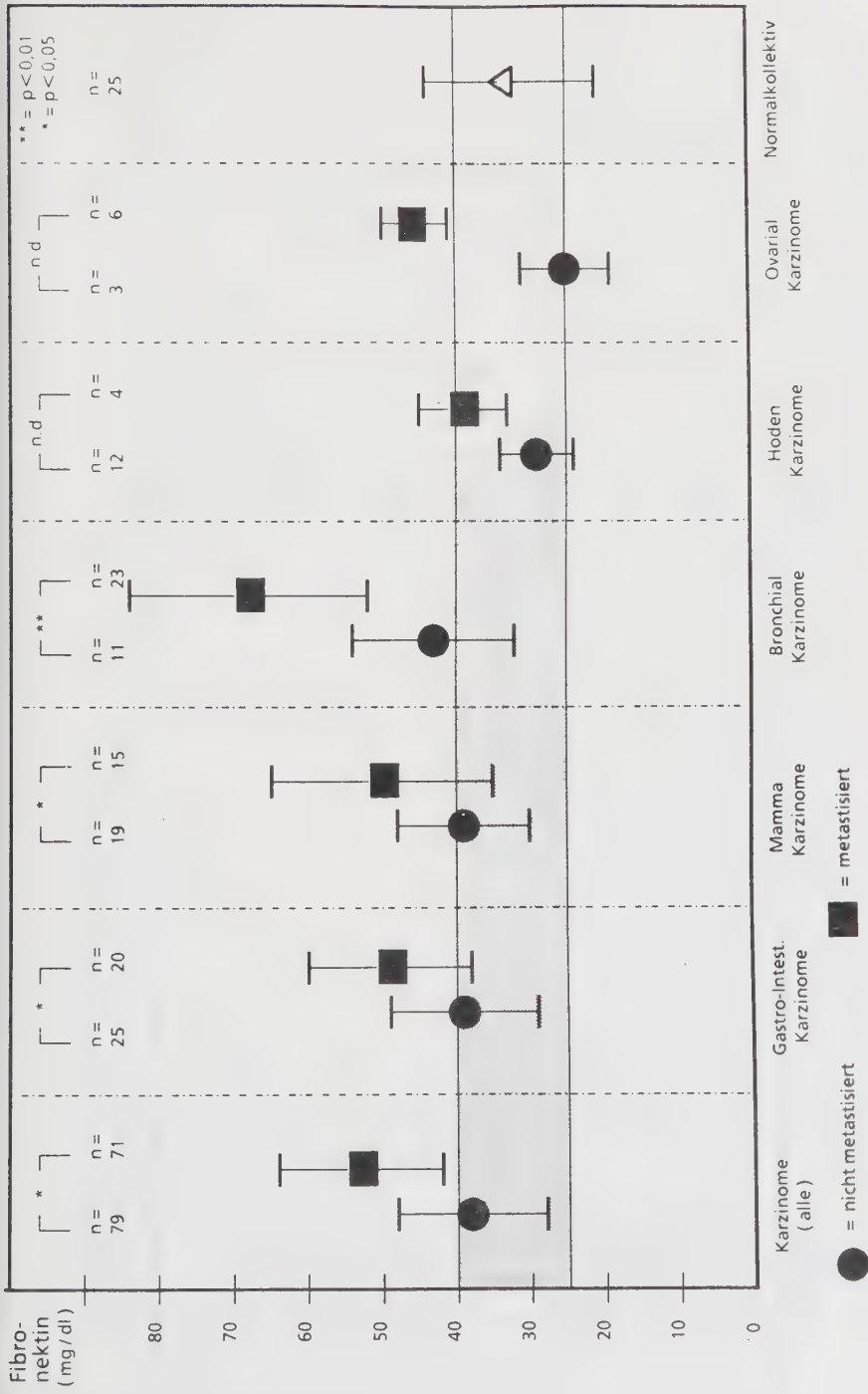


Abb. 3: Mittelwert und einfache Standardabweichung der Fibronektinspiegel bei Karzinompatienten, unterteilt nach dem Tumorstadium (ohne und mit Metastasen), und nach der Lokalisation des Primärtumors. Die schraffierte Zone entspricht dem Fibronektin-Normalbereich.

FN (mg /dl)	Karzinome (alle)		Gastrointestinal Karzinome		Mamma Karzinome		Bronchial Karzinome		Hoden Karzinome		Ovarial Karzinome	
gesamt	n = 150	42,3 ± 9,3	n = 45	46,9 ± 14,2	n = 34	42,8 ± 15,0	n = 34	61,2 ± 18,3	n = 16	33,2 ± 6,5	n = 9	38,6 ± 9,6
ohne Metastasen 1	n = 79	37,4 ± 8,1	n = 25	39,6 ± 7,5	n = 19	39,2 ± 7,7	n = 11	44,5 ± 10,3	n = 12	29,8 ± 4,7	n = 3	27,8 ± 6,1
mit Metastasen 2	n = 71	52,2 ± 12,4	n = 20	49,2 ± 10,0	n = 15	49,9 ± 14,3	n = 23	67,3 ± 15,1	n = 4	39,2 ± 3,1	n = 6	44,2 ± 5,4
Signifikanz von 1 zu 2		p < 0,05		p < 0,05		p < 0,05		p < 0,01		nicht best.		nicht best

Tab. 1: Mittelwert und einfache Standardabweichung der Fibronektin (FN) Spiegel bei Karzinompatienten, unterteilt nach dem Tumorstadium (ohne und mit Metastasen), und nach der Lokalisation des Primartumors
Der Fibronektin - Normalwert beträgt 25 - 40 mg / dl (55).

	Karzinome (alle)			
FN (mg / dl)	weibliche Patienten		männliche Patienten	
gesamt n	n = 77	40,4 ± 12,9	n = 73	45,3 ± 10,1
ohne Met. 1	n = 39	35,8 ± 10,2	n = 40	39,2 ± 9,7
mit Met. 2	n = 38	49,6 ± 14,8	n = 33	53,4 ± 11,7
Signifikanz 1 : 2		p < 0,05		p < 0,05

Tab.1a: Mittelwert und Standardabweichung der Fibronektin (FN) - Spiegel bei Karzinompatienten, unterteilt nach dem Tumorstadium (ohne und mit Metastasen), und unter Berücksichtigung der Geschlechtsverteilung.
Der Fibronektin Normalwert beträgt 25 - 40 mg / dl (55).

Im metastasierten Stadium sind die Fibronektin - Spiegel bei den Gastrointestinalen Karzinomen mit $49,2 \pm 10,0$ mg / dl, bei den Mammakarzinomen mit $49,9 \pm 14,3$ mg / dl, bei den Bronchialkarzinomen mit $67,3 \pm 15,1$ mg / dl, bei den Hodenkarzinomen mit $39,2 \pm 3,1$ mg / dl und bei den Ovarialkarzinomen mit $44,2 \pm 5,4$ mg / dl erhöht. Die zusätzliche Aufschlüsselung der Bronchialkarzinome und der Gastrointestinalen Karzinome nach der Histologie (in Abb. 3 und Tab. 1 nicht angegeben) ergibt folgende Fibronektin - Mittelwerte: Für die kleinzelligen Bronchialkarzinome (n = 19) $65,8 \pm 18,6$ mg / dl und für die großzelligen Bronchialkarzinome (n = 4) $73,8 \pm 13,6$ mg / dl; für die Rektum / Kolon - Karzinome (n = 12) $49,8 \pm 13,1$ mg / dl; für die Magenkarzinome (n = 4) $48,7 \pm 9,6$ mg / dl und für die Ösophaguskarzinome (n = 4) $47,2 \pm 2,6$ mg / dl.

Der Unterschied der Fibronektin - Spiegel zwischen dem metastasenfreien bzw. metastasierten Tumorstadium der Gastrointestinalen -, Mamma -, und Bronchialkarzinome ist signifikant ($p < 0,05$) (Tab. 1). Beim Ovarial - und beim Hodenkarzinom wird aufgrund der zum Teil geringen Fallzahl auf eine statistische Auswertung verzichtet.

Für 12 Karzinome (3 Schilddrüsen -, 3 Nieren -, 2 Collum, 1 Epipharynx-, 1 Mundboden -, 1 Lippen -, und 1 Nebennierenkarzinom) und 10 Sarkome sind die ermittelten Fibronektin - Spiegel in Tab. 5 wiedergegeben. Auf eine Zusammenfassung in Untergruppen wurde aufgrund der kleinen Fallzahl verzichtet.

Die mittlere Fibronektin - Konzentration bei den 10 Sarkomen beträgt $39,3 \pm 16,8$ mg / dl. Auffallend hoch mit $65,9$ mg / dl war der FN - Wert bei den Nebennierenkarzinom.

Bei der Aufschlüsselung der 150 Karzinompatienten unter der Berücksichtigung der Geschlechtsverteilung (Tab. 1a) zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den FN - Werten bei weiblichen, bzw. männlichen Patienten (unabhängig von dem Tumorstadium). Sowohl bei den weiblichen als auch bei den männlichen Patienten zeigen die Fibronektinwerte einen signifikanten Unterschied zwischen den nicht - metastasierten und den metastasierten Karzinomen (Tab. 1a).

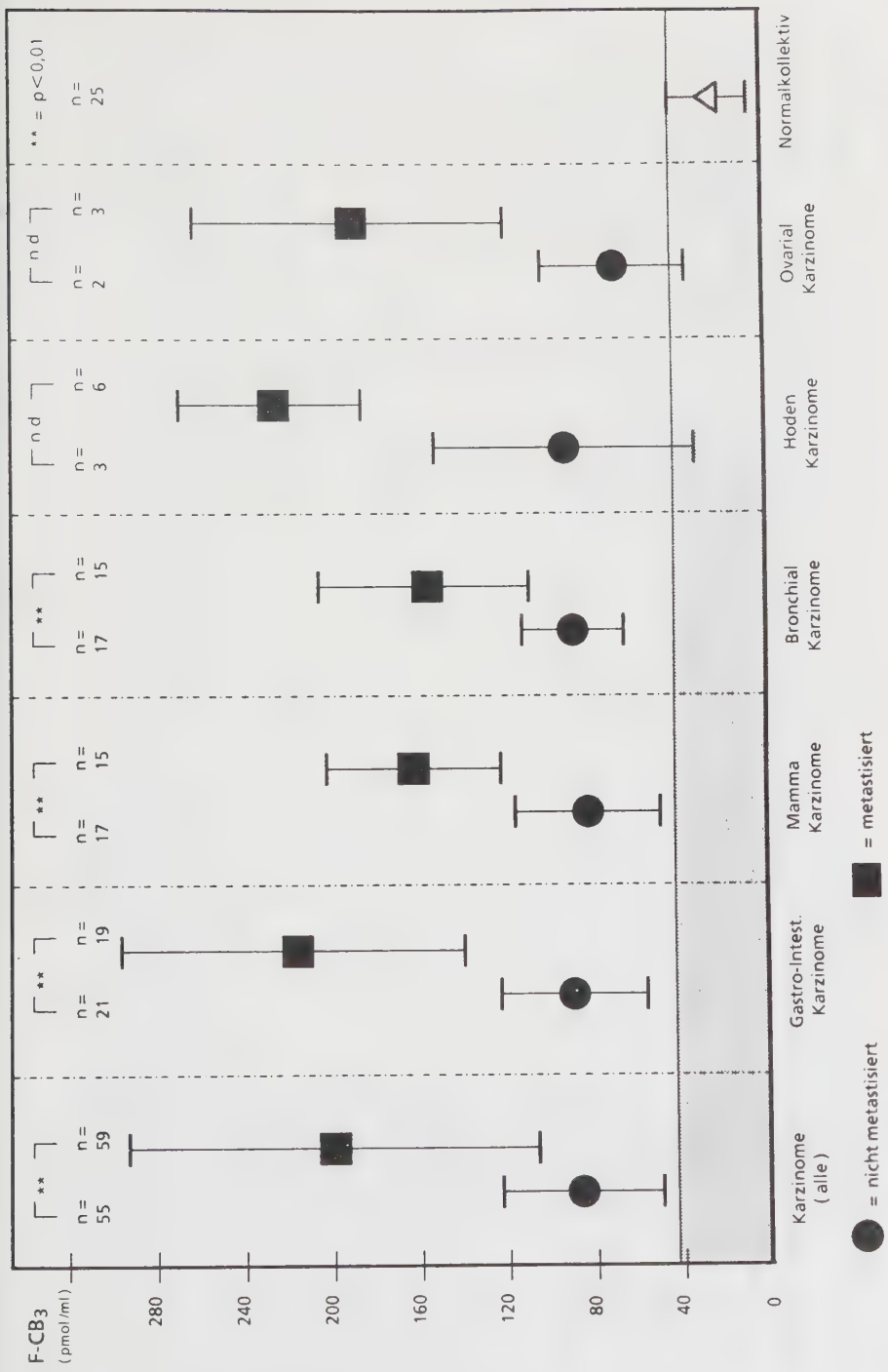


Abb. 4: Mittelwert und einfache Standardabweichung der F-CB₃ - Spiegel bei Karzinompatienten, unterteilt nach dem Tumorstadium (ohne und mit Metastasen), und nach der Lokalisation des Primartumors. Die schraffierte Zone entspricht dem F-CB₃ - Normalbereich.

F-CB ₃ (pmol/ml)	Karzinome (alle)		Gastrointestinal Karzinome		Mamma Karzinome		Bronchial Karzinome		Hoden Karzinome		Ovarial Karzinome	
gesamt	n = 114	139,6 ± 74,2	n = 40	152,2 ± 83,0	n = 32	122,2 ± 52,0	n = 22	134,6 ± 50,6	n = 9	147,2 ± 78,0	n = 5	141,0 ± 88,6
ohne Metastasen 1	n = 55	88,8 ± 31,8	n = 21	90,2 ± 28,6	n = 17	83,0 ± 27,2	n = 9	87,2 ± 18,8	n = 3	94,2 ± 48,2	n = 2	69,2 ± 13,4
mit Metastasen 2	n = 59	191,2 ± 75,3	n = 19	215,8 ± 74,8	n = 15	161,6 ± 37,0	n = 13	159,6 ± 45,6	n = 6	227,4 ± 44,4	n = 3	188,8 ± 83,8
Signifikanz von 1 zu 2		p < 0,01		p < 0,01		p < 0,01		p < 0,01		nicht best.		nicht best

Tab.2: Mittelwert und einfache Standardabweichung der F-CB₃ - Spiegel bei Karzinompatienten, unterteilt nach dem Tumorstadium (ohne und mit Metastasen), undnach der Lokalisation des Primartumors
Der F-CB₃ - Normalwert ist ≤ 42 pmol / ml (27).

	Karzinome (alle)			
FCB ₃ (pmol / ml)	weibliche Patienten		männliche Patienten	
gesamt n	n = 64	130,2 ± 81,3	n = 50	147,3 ± 70,5
ohne Met. 1	n = 32	92,3 ± 40,8	n = 23	70,2 ± 38,1
mit Met. 2	n = 32	150,1 ± 65,7	n = 27	234,5 ± 71,2
Signifikanz 1 : 2		p < 0,01		p < 0,01

Tab.2a: Mittelwert und Standardabweichung der FCB₃ - Spiegel bei Karzinompatienten, unterteilt nach dem Tumorstadium (ohne und mit Metastasen), und unter Berücksichtigung der Geschlechtsverteilung. Der FCB₃ Normalwert ist ≤ 42 pmol / ml (27).

	Fibronectin (mg / dl)	F-CB ₃ (pmol / ml)	Metastasen mit + ; ohne -
<u>Karzinome</u>			
Schilddrüsenkarzinom	34,2	66,8	-
Schilddrüsenkarzinom	34,3	124,2	+
Schilddrüsenkarzinom	35	98,6	-
Nierenkarzinom	28,3	141,2	+
Nierenkarzinom	45,3		-
Nierenkarzinom	37,4		-
Epipharynxkarzinom	34,6	128,4	-
Mundbodenkarzinom	38,4		-
Lippenkarzinom	49,3		-
Collumkarzinom Ia	40,3		-
Collumkarzinom II	42,3		-
Nebennierenkarzinom	65,9	264,0	+
<u>Sarkome</u>			
Ewing Sarkom	31,0	70,8	+
Ewing Sarkom	45,3		-
Osteosarkom	21,3	84,0	+
Osteosarkom	46,4	96,6	+
Osteosarkom	72,1	77,8	+
Osteosarkom	52,3		+
Liposarkom	24,4	113,2	+
neurogenes Sarkom	20,2	60,6	-
Kaposi Sarkom	42,3		+
Mesotheliom	50,1	245,8	+
(MW)	39,3 ± 16,8	107,0 ± 62,4	

Tab.5. Fibronectin und F-CB₃ - Einzelwerte bei verschiedenen Karzinomen und Sarkomen. Für die Sarkome ist der Mittelwert (MW) und die dazugehörige Standardabweichung angegeben.

4.2 F-CB₃ - Spiegel bei Karzinompatienten

In Abb.4 sind die bei 114 Karzinompatienten bestimmten Mittelwerte der F-CB₃ - Spiegel mit der zugehörigen Standardabweichung wiedergegeben. Dabei wird zwischen Patienten mit und ohne Metastasen unterschieden.

Der Mittelwert der F-CB₃ - Spiegel der metastasenfrenen Karzinompatienten (n = 55) ist mit $88,3 \pm 31,8$ pmol / ml, der Mittelwert der metastasierten Karzinome (n = 59) mit $191,2 \pm 75,3$ pmol / ml erhöht. Der Unterschied der F-CB₃ - Spiegel zwischen metastasenfrenen und metastasierten Karzinomen ist mit $p < 0,01$ signifikant (Tab.2).

Bei der Unterteilung der Karzinompatienten nach der Lokalisation des Primärtumors zeigen sich bei den metastasenfrenen Karzinompatienten keine wesentlichen Abweichungen von dem für alle metastasenfrenen Karzinompatienten errechneten Mittelwert.

Unterschiede werden jedoch im metastasierten Stadium beobachtet.

Hier liegen die Hodenkarzinome (n = 6) mit $227,4 \pm 44,4$ pmol / ml und die Gastrointestinalen - Karzinome (n = 19) mit $215,8 \pm 74,8$ pmol / ml am höchsten. Die Unterschiede der F-CB₃ - Spiegel zwischen dem metastasenfrenen und dem metastasierten Tumorstadium sind auch für die Untergruppen der Gastrointestinalen -, Mamma - und Bronchialkarzinome mit $p < 0,01$ signifikant. Für die Hoden - und Ovarialkarzinome wird aufgrund der niedrigen Fallzahl auf eine statistische Auswertung verzichtet. Die Auftrennung der Gastrointestinalen - Karzinome in Rektum / Kolon - Karzinome (n = 27), Magenkarzinome (n = 6) und Ösophaguskarzinome (n = 7) ergibt keine wesentlichen Abweichungen der Mittelwerte sowohl im metastasenfrenen als auch im metastasierten Stadium (in Tab.2 nicht wiedergegeben).

Bei der Aufschlüsselung der 114 Karzinompatienten unter Berücksichtigung der Geschlechtsverteilung (Tab.2a) zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den FCB₃ - Werten bei weiblichen bzw. männlichen Patienten (unabhängig von dem Tumorstadium). Sowohl bei den weiblichen als auch bei den männlichen Patienten zeigen die FCB₃ - Werte einen signifikanten Unterschied zwischen den nicht - metastasierten und den metastasierten Karzinomen (Tab.2a).

Bei 6 weiteren Patienten mit Karzinomen wurden ebenfalls die F-CB₃ Spiegel ermittelt. Diese sind in Tab.5 wiedergegeben. Auf eine Zusammenfassung in Untergruppen wurde aufgrund der geringen Fallzahl verzichtet. Der bei 7 Sarkompatienten gemessene Mittelwert beträgt $107,0 \pm 62,4$ pmol / ml. Ein besonders hoher F-CB₃ Wert wurde bei dem Nebennierenkarzinom mit 264,0 pmol / ml gemessen.

4.3 FPA -Spiegel bei Karzinompatienten

Der Mittelwert von $26,1 \pm 29,1$ ng / ml für die FPA - Spiegel von 64 * Patienten mit einer Karzinomerkrankung ist in Tab 3 wiedergegeben. Bei der Aufschlüsselung der Werte nach der Lokalisation des Primartumors zeigt sich, daß die Bronchialkarzinome (n = 18) mit $48,2 \pm 18,8$ ng / ml am höchsten liegen. Die Mittelwerte für die Gruppe der Gastrointestinalen - (n = 20) und der Mammakarzinome (n = 17) unterscheiden sich mit $19,7 \pm 27,0$ ng / ml bzw. $22,4 \pm 31,6$ ng / ml nur geringfügig vom Mittelwert für die Gesamtzahl der Karzinome. Die FPA - Spiegel für die Hoden - (n = 5) und für die Ovarialkarzinome (n = 4) sind mit $12,2 \pm 4,5$ ng / ml bzw. $36,7 \pm 53,3$ ng / ml vergleichsweise niedrig.

*Aufgrund der erheblichen Kosten dieses Testverfahrens wurden die FPA - Werte von nur 64 Patienten bestimmt. Dabei wurde die Bestimmung bei den Patienten 1 - 64 durchgeführt.

Karzinome	n =	FPA (ng /ml)
alle	64	26,1 ± 29,1
Gastrointestinal Karzinome	20	19,7 ± 27,0
Mamma Karzinome	17	22,4 ± 31,6
Bronchial Karzinome	18	48,2 ± 18,8
Hoden Karzinome	5	12,2 ± 4,5
Ovarial Karzinome	4	36,7 ± 53,3

Tab.3: Mittelwert und einfache Standardabweichung der Fibrinopeptid - A - Spiegel (FPA) bei Karzinompatienten unterteilt nach der Lokalisation des Primärtumors.
Der FPA - Normalwert ist <5 ng / ml.

4.4 Fibronektin (FN) -, Fibrinogen (FBG) und FDP Spiegel bei operativen Eingriffen

Der Verlauf der Plasma - Spiegel von Fibronektin vor, während und nach operativen Eingriffen, bei Patienten mit und ohne Karzinom-erkrankung ist in Tab.4 wiedergegeben.

Zusätzlich ist der Verlauf der Fibronektin - Spiegel in Abb.5 / 6 graphisch dargestellt. Die Karzinompatienten zeigen präoperativ mit $44,1 \pm 4,7$ mg / dl erhöhte Fibronektin Ausgangswerte, die während der 3 stündigen Operationsbelastung kontinuierlich bis auf $31,6 \pm 6,0$ mg /dl abfallen. Auch in den 24 Stunden nach der Operation sinkt das Fibronektin noch geringfügig auf $30,7 \pm 8,7$ mg / dl ab, um dann in der ersten postoperativen Woche wieder steil bis auf $43,8 \pm 5,2$ mg / dl anzusteigen (Abb.6).

Bei dem tumorfreien Vergleichskollektiv (Abb.5) liegen die präoperativ ermittelten Fibronektin - Spiegel mit $29,4 \pm 6,5$ mg / dl im Normalbereich. Sie fallen unter der Operationsbelastung und im Verlauf des ersten postoperativen Tages nur geringfügig auf $26,4 \pm 6,1$ mg / dl ab. In den folgenden 7 postoperativen Tagen steigen die Fibronektin - Spiegel bis auf $46,7 \pm 8,5$ mg / dl steil an. Dieser Anstieg geht weit über den präoperativen Fibronektin-Wert hinaus und ist mit $p < 0,05$ signifikant. Der Verlauf der FN - Spiegel wurde mit dem Verlauf der Fibrinogen - und FDP - Werte, die in der Dissertationsarbeit von Frl. Agster (2) bestimmt worden waren, verglichen (in Tab. 4 mit aufgenommen).

Fibrinogen fällt intraoperativ bei den Karzinompatienten von 350 ± 121 mg / dl auf 300 ± 123 mg / dl und bei dem Vergleichskollektiv von 285 ± 60 mg / dl auf 271 ± 49 mg / dl ab. Postoperativ kommt es in beiden Kollektiven zu einem Wiederanstieg auf 454 ± 79 mg / dl bei den Karzinompatienten und auf 465 ± 135 mg / dl bei dem Vergleichskollektiv. Dieser Anstieg ist mit $p < 0,05$ signifikant (Tab 4) (Abb.5,6). Die Fibrinospaltprodukte (FDP) sind bei den Karzinompatienten präoperativ bereits erhöht, steigen intraoperativ geringfügig und im postoperativen Verlauf steiler an. Am 8. postoperativen Tag wird ein FDP - Spiegel von 80 ± 64 ng / ml erreicht. Im Vergleichskollektiv ist der Anstieg der Spaltprodukte im gesamten Verlauf gering. Der Normalbereich wird nie überschritten (Tab.4) (2).

	vor	1 Stunde nach	3 Stunden nach	1 Tag nach	8 Tage nach	p*
	Operation	Operations- beginn	Operations- beginn	Operation	Operation	1 zu 5
Fibronektin [mg / dl]	TU n = 16	44,1 ± 4,7	36,6 ± 8,5	30,7 ± 8,7	43,8 ± 5,2	n.s.
	Ø TU n = 14	29,4 ± 6,5	27,7 ± 6,5	26,4 ± 6,1	46,7 ± 8,5	s.
Fibrinogen * [mg / dl]	TU n = 16	350 ± 121	338 ± 123	404 ± 135	465 ± 135	s.
	Ø TU n = 14	285 ± 60	277 ± 57	347 ± 69	454 ± 79	s.
FDP * [yg / ml]	TU n = 16	34 ± 41	36 ± 30	62 ± 52	80 ± 56	s.
	Ø TU n = 14	4 ± 8,5	7 ± 12,4	17 ± 18	24 ± 13	s.

*Bei $p < 0,05$ wurde der Unterschied als signifikant (= s.), bei $p \geq 0,05$ als nichtsignifikant (= n.s.) betrachtet

Tab.4: Mittelwerte und einfache Standardabweichungen der Fibronektin -, Fibrinogen - und FDP - Spiegel bei Patienten mit (TU) und ohne (Ø TU) Karzinom vor, während und nach großen operativen Eingriffen (* übernommene Werte siehe Text).

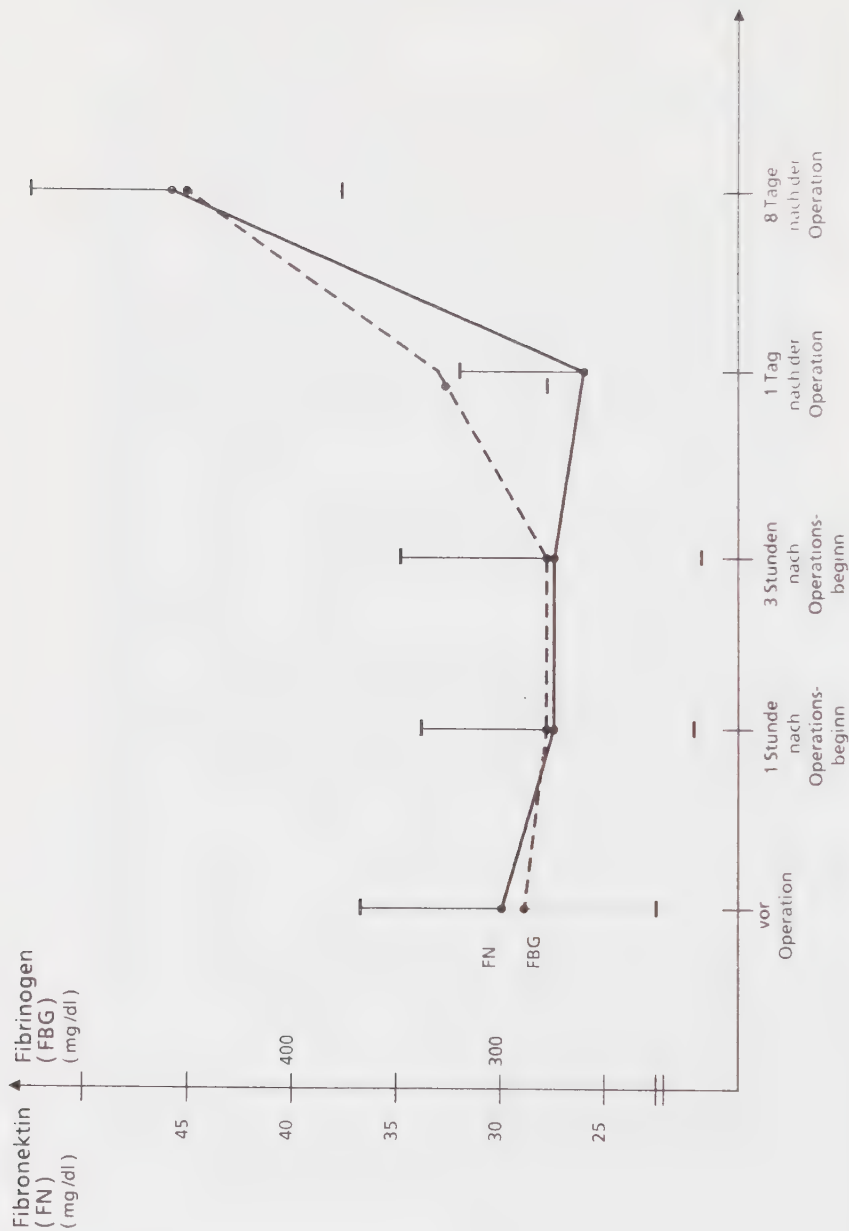


Abb. 5: Mittelwerte und einfache Standardabweichungen der Fibronektin- und Fibrinogenspiegel bei Patienten ohne Karzinomkrankung vor, während und nach großen operativen Eingriffen.

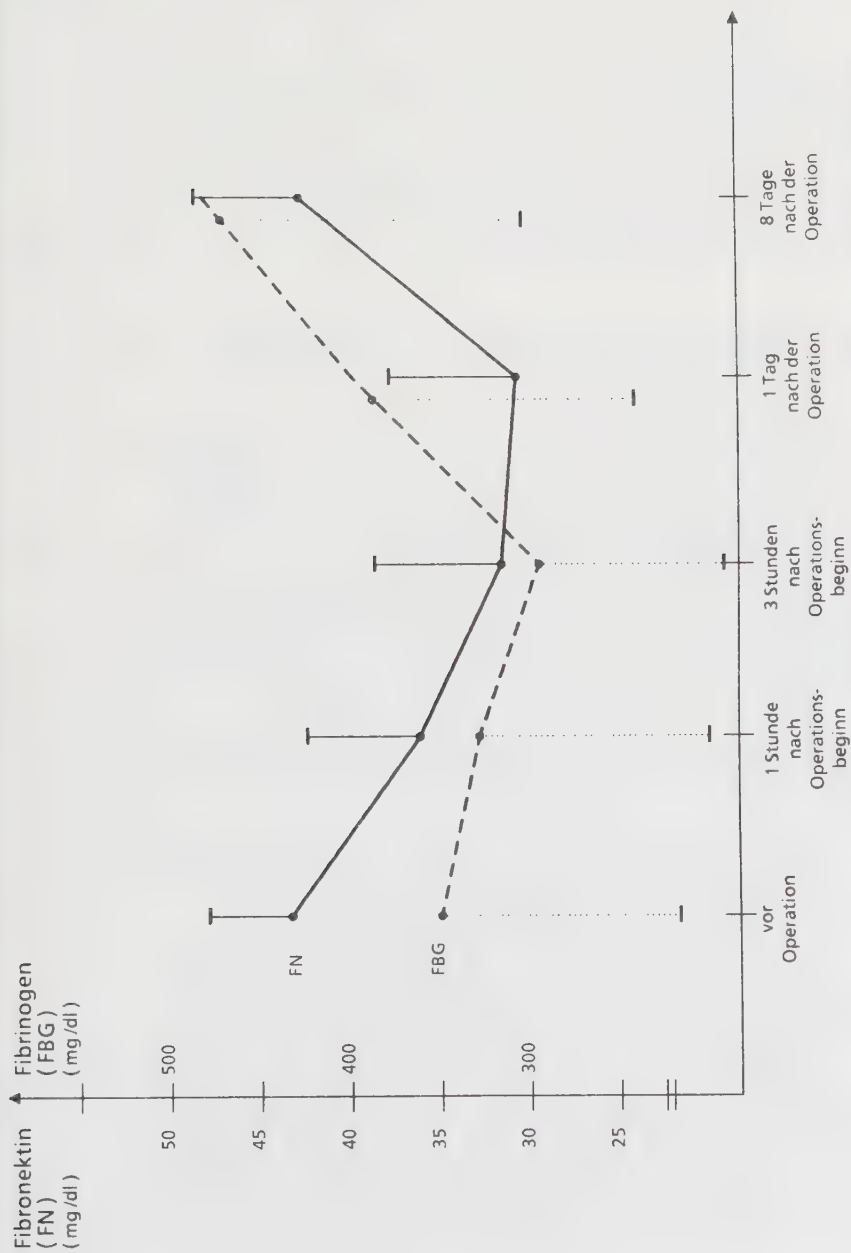


Abb. 6: Mittelwerte und einfache Standardabweichungen der Fibronektin - und Fibrinogenspiegel bei Karzinompatienten vor, während und nach großen operativen Eingriffen

4.4.1 Korrelation von Fibrinogen - und FDP - Spiegeln

Zwischen der Höhe der FBG - Spiegel und der Höhe der FDP - Spiegel ergibt sich bei den hohen FDP - Spiegeln am 8. postoperativen Tag bei den Tumorpatienten eine positive Korrelation mit $r = 0,97$. Zu den übrigen Meßzeitpunkten, ergab sich zu keinem Zeitpunkt eine positive Korrelation. Im tumorfreien Vergleichskollektiv ergibt sich im gesamten Verlauf keine Korrelation ($0 < r < 0,2$).

4.5 Korrelation von FPA -, F-CB3 -, FBG - und FN - Spiegeln bei Karzinompatienten

In Abb.7 ist die Korrelation zwischen den FN - und FPA - Werten von 50* untersuchten Karzinompatienten wiedergegeben. Zwischen beiden Parametern ergibt sich ein Korrelationskoeffizient $r = 0,504$ mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $IW \leq 0,001$.

Ebenso wurde bei 100** Patienten die Korrelation zwischen der FN - Konzentration und dem F-CB₃ ermittelt (Abb.8). Es ergibt sich ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,522$ mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $IW \leq 0,001$.

Eine Korrelation von $r = 0,544$ ergibt sich beim Vergleich der FN - Konzentration mit der FBG - Konzentration bei 120*** Karzinompatienten. Die Irrtumswahrscheinlichkeit ist $IW \leq 0,001$ (Abb. 9)

* In diese Korrelation gingen die Hoden - und Ovarial - Karzinome nicht mit ein (zu geringe Fallzahl). Außerdem wurden 3 Bronchial - Karzinome und 2 Gastronitestinalkarzinome ausgeschlossen, bei denen keine Doppelbestimmung des FPA durchgeführt wurde.

** Bei dieser Korrelation gehen die Ovarialkarzinome ($n = 5$) und die Hodenkarzinome ($n = 9$) aufgrund der niedrigen Fallzahl nicht ein.

*** Die FBG - Bestimmung wurde bei 150 Karzinompatienten durchgeführt. Da Doppelbestimmungen durchgeführt wurden, konnten aufgrund von Materialmangel nur die Werte von 120 FBG - Bestimmungen in diese Arbeit aufgenommen werden.

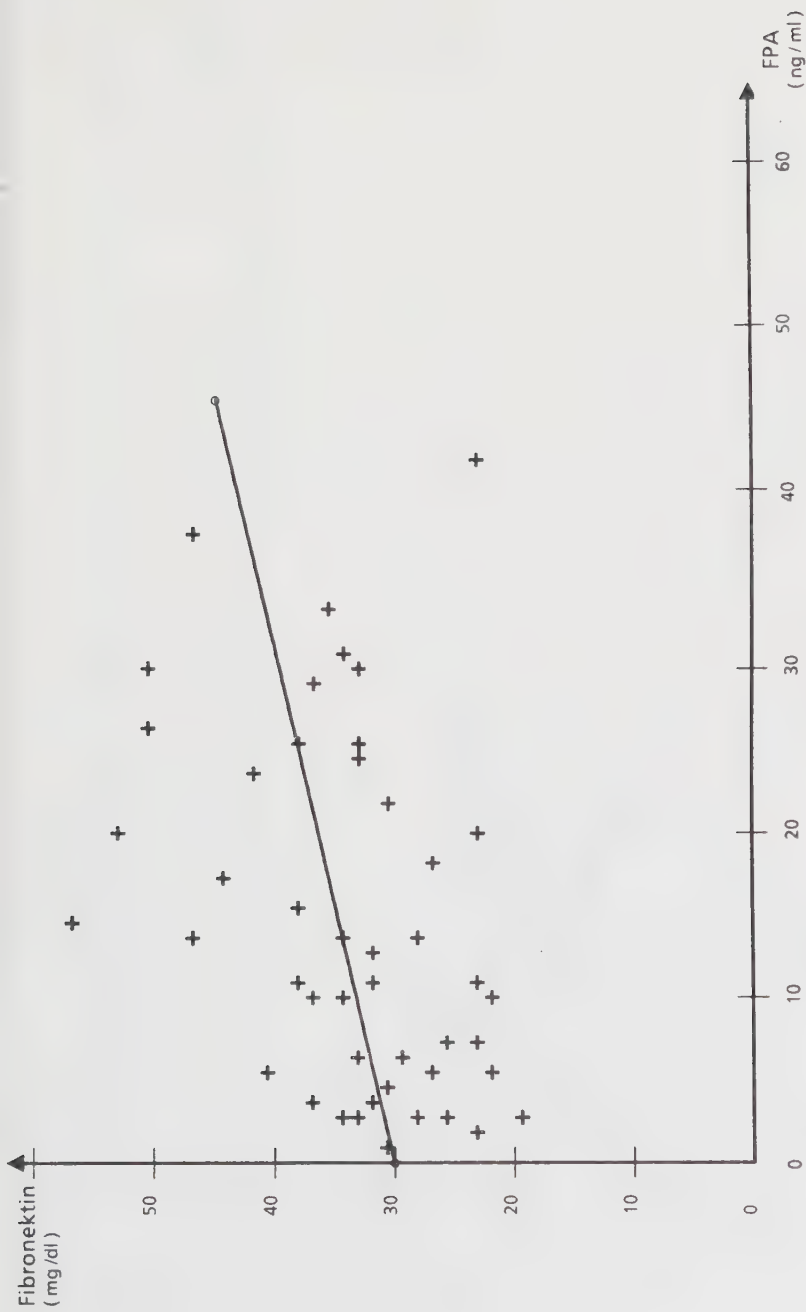


Abb. 7: Korrelation von Fibronektin mit dem Fibrinopeptid - A (FPA) im Plasma von Karzinompatienten ($n = 50$).
Der Korrelationskoeffizient r beträgt 0,504.

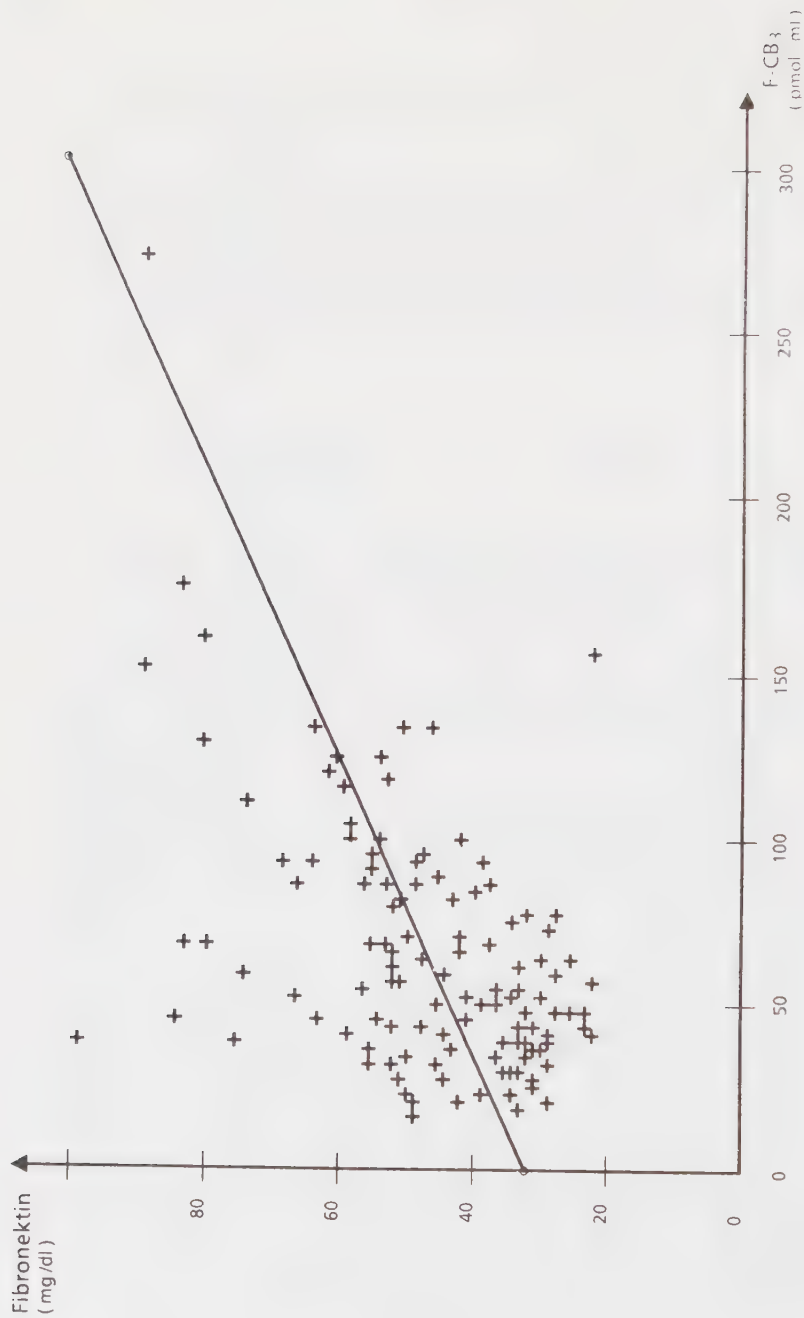


Abb. 8: Korrelation von Fibronektin mit der F-CB₃ Plasmakonzentration bei Karzinompatienten (n = 100). Der Korrelationskoeffizient r beträgt 0,522.

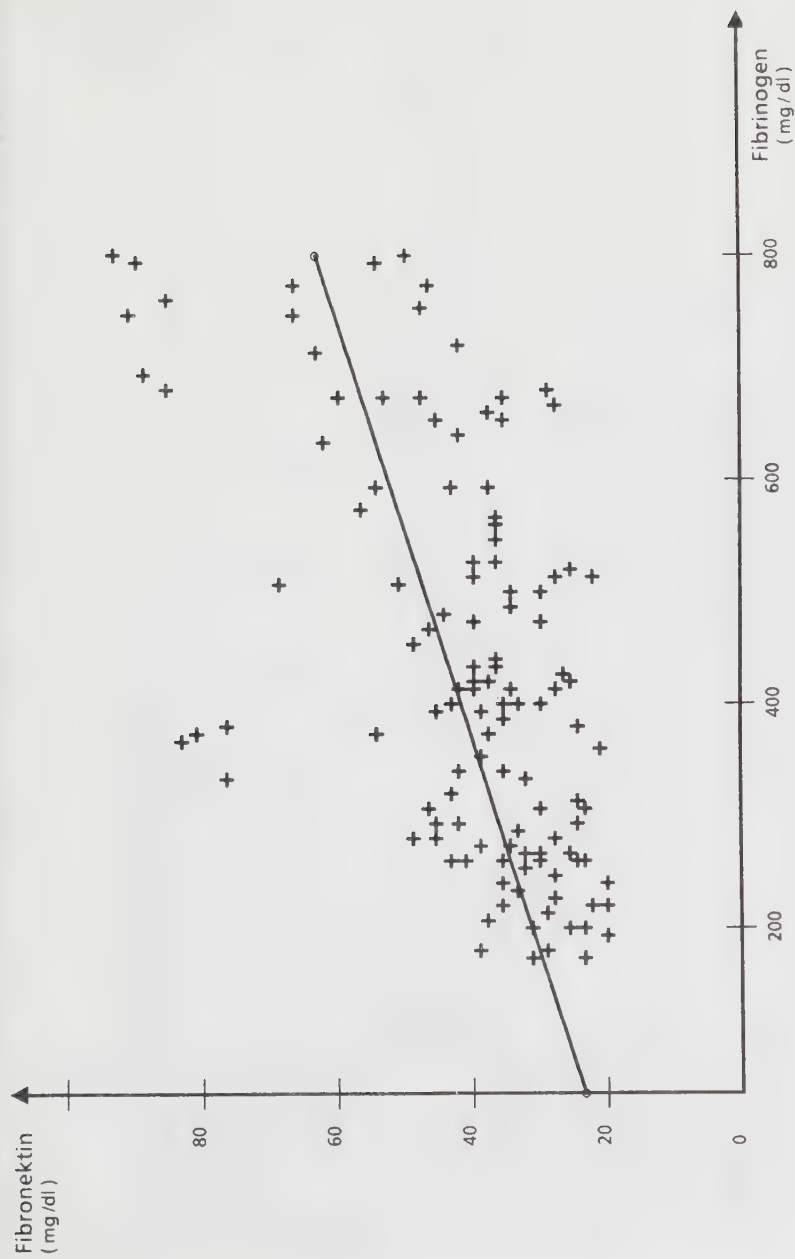


Abb. 9: Korrelation von Fibronektin mit der Fibrinogen - Plasmakonzentration bei Karzinompatienten ($n = 120$).
Der Korrelationskoeffizient r beträgt 0,544.

	Klinik (Tastbefund Anamnese)	Labor (BSG, Tumormarker, etc.)	Röntgen Thorax	Zytologie (Abstrich, *)	Mammographie	Ultraschall (Ober, Unterbauch)	Magen-Darmpassage	Gastro-Endoskopie **	Bronchoskopie ***	Tomographie CT ****	post operatives Staging #
Gastronitestinale Karzinome	+	+	+	+		+	+	+		+	+
Mamma Karzinome	+	+	+	+	+	+				+	+
Bronchial - Karzinome	+	+	+	+		+			+	+	+
Hoden Karzinome	+	+	+			+		+		+	+
Ovarial Karzinome	+	+	+			+	+	+		+	+

* Feinnadelbiopsie

** (+ Biopsie)

*** (+ Biopsie)

**** (Skelettszintigraphie)

Falls eine Operation geplant war, wurden die Blutproben für diese Arbeit vor der Operation entnommen. Eine Einteilung des Tumorstadiums (mit / ohne Metastasen) erfolgte nach dem Operationssitus und der histologischen Aufarbeitung des Materials

Tab. 6: Durchgeführte Untersuchungen zur Entscheidung ob ein Solitär Tumor oder eine Metastasierung vorliegt
" + " : Untersuchung wurde durchgeführt.

Kapitel 5

Diskussion

Die erhöhten FPA und F-CB₃ - Werte (Abb.2,3) spiegeln den bei Tumorpacienten erhöhten Fibrinogen - Umsatz (65,77) wieder. Dieser ist Ausdruck eines gestörten Haemostasesystems. Die gefundenen FPA - Werte stimmen mit den in der Literatur bei Tumorpacienten beschriebenen Werten überein (1,22,66,87). Sie belegen eine kontinuierlich anhaltende vermehrte Bildung von Thrombin. FPA hat sich bisher als einziger überaus sensibler Parameter zur Beurteilung der Haemostasestörung bei Tumorpacienten erwiesen. Wegen seiner hohen Sensitivität wurde FPA auch als Tumorverlaufsparameter eingesetzt (1, 22, 36, 65, 70).

Die von uns erstmals an einer großen Zahl von Karzinompatienten durchgeführte Bestimmung der F-CB₃ - Werte belegt für diesen Fibrino-(geno)lyse - Parameter eine dem FPA mindestens vergleichbare Sensitivität. So sind die F-CB₃ - Werte bereits im noch nicht metastasierten Tumorstadium bei allen untersuchten Tumortypen erhöht (Abb.4). Die F-CB₃ - Werte zeigen somit, daß eine gesteigerte Fibrinogenolyse ein allgemeines Merkmal von Tumorpacienten ist. Die im metastasierten verglichen mit dem nicht metastasierten Tumorstadium signifikant höheren F-CB₃ - Werte können darüber hinaus auf eine direkte Abhängigkeit der Fibrino(geno)lyse - Aktivität von der Tumormasse hinweisen (Abb.4). Es ist aber auch denkbar, daß es im Rahmen der Metastasierung zu einer Selektion proteolytisch besonders aktiver Karzinomzellen kommt, da eine hohe proteolytische Aktivität von Karzinomzellen die Metastasierung begünstigt (14).

In jedem Fall lassen diese Ergebnisse erwarten, daß F-CB₃ zur Beurteilung einer Tumorprogression geeignet ist. Prospektiv kontrollierte Untersuchungen im Verlauf von Tumorerkrankungen an einem größeren Patientenkollektiv erscheinen deshalb interessant.

Andere Fibrino(geno)lyseparameter wie z. B. die Bestimmung der größeren Fibrin(ogen) - Spaltprodukte (FDP) sind bei fortgeschrittenen Tumorerkrankungen ebenfalls häufig erhöht (66,77), sind aber wegen ihrer geringen Sensitivität (3) als Verlaufsparameter nicht geeignet.

Die signifikant erhöhten Fibronektin - Werte (Tab. 1, Abb. 3) im metastasierten, verglichen mit dem nicht metastasierten Tumorstadium, zeigen auch für Fibronektin eine Korrelation mit der Tumor - Progression. Dieser Zusammenhang wurde in einer früheren Untersuchung (78) möglicherweise deshalb nicht gefunden, weil in dieser Arbeit Patienten mit DIC, Sepsis oder einer pathologischen erniedrigten Lebersyntheseleistung nicht ausgeschlossen worden waren und solche Komplikationen zu einer Erniedrigung der Plasma - Fibronektin - Spiegel führen.

Mosher (58) hingegen fand bei 14 Patientinnen mit einem Mammakarzinom mit uns vergleichbare Ergebnisse. Bei 5 Patientinnen mit Mammakarzinom ohne Metastasierung war das Fibronektin nicht, bei 9 Patientinnen mit Metastasierung war es erhöht. Ähnliche Ergebnisse wurden von Choate (16) berichtet. Sie fand bei 15 Mammakarzinompatientinnen im nicht - metastasierten Zustand leicht und bei 12 Mammakarzinompatientinnen im metastasierten Zustand deutlich erhöhte Fibronektinwerte. Diese Autorin untersuchte zusätzlich 26 Kolonkarzinompatienten und fand eine Erhöhung der Fibronektin - Spiegel, die aber bei den 14 metastasierten Patienten weniger ausgeprägt waren, als bei den 12 nicht - metastasierten Patienten. Sie zog daraus den Schluß, daß die Plasmafibronektin - Spiegel nicht mit dem Tumorstadium korrelieren. Aus unserer Untersuchung ergibt sich eine solche Korrelation jedoch eindeutig. Die Fibronektin - Spiegel waren im metastasierten Krankheitsstadium immer signifikant höher als im nicht - metastasierten Krankheitsstadium (Tab. 1, Abb. 3). Dies ist möglicherweise auf den bewußten Ausschluß von Patienten mit klinisch relevanter Lebersynthesestörung zurückzuführen.

Bereits Choate wies auf mögliche Unterschiede der Fibronektin - Spiegel in Abhängigkeit von dem Primärtumor hin. Solche Unterschiede können wir bestätigen. So finden wir die niedrigsten Fibronektin - Spiegel bei den Hodenkarzinomen, die sowohl im nicht - metastasierten als auch im metastasierten Zustand im Normalbereich liegen. Die höchsten Werte werden bei den Bronchialkarzinomen gemessen, deren mittlere Fibronektin - Konzentration sowohl im nicht - metastasierten als auch im metastasierten Zustand erhöht ist.

Dieser Befund zeigt, daß der Tumortyp die Höhe des Plasma - Fibronektin - Spiegels beeinflußt. Somit erscheint Fibronektin nur bei bestimmten Tumoren als Verlaufsparemeter geeignet. Weiterhin muß berücksichtigt werden, daß eine Reihe von Begleiterkrankungen, die gerade bei Tumorpateinten häufig auftreten, die tumorbedingte Fibronektinerhöhung wieder aufheben. Der Wert von Fibronektin als Tumormarker wird dadurch deutlich eingeschränkt.

Trotzdem läßt es die signifikante Erhöhung von Fibronektin beim Bronchialkarzinom, dem Gastrointestinalen Tumoren und den Mammakarzinom im metastasierten Krankheitsstadium sinnvoll erscheinen, in weiteren Studien den Wert von Fibronektin als Verlaufsparemeter bei diesen Karzinomen zu untersuchen. Dabei müssen die in unserer Untersuchung beachteten Ausschlusskriterien berücksichtigt werden.

Aus unseren Befunden lassen sich unterschiedliche Theorien zur Pathogenese der erhöhten Fibronektin - Spiegel ableiten. So kann die gute Korrelation zwischen dem Fibronektin und dem FPA, bzw. dem Fibronektin und dem F-CB₃ als Folge des bei Tumorzellen bekannten gesteigerten „cell-surface-shatting“ (8) gesehen werden. Dabei kommt es zur vermehrten Freisetzung von Oberflächenproteinen aus der Glycocalix. Dazu zählen Proteasen, aber auch das auf der Zelloberfläche besonders reichlich vorhandene Fibronektin (11).

Im Rahmen des transformationsbedingten vermehrten „cell-surface-shatting“ kann es aber auch zu Veränderungen der Zellmembran kommen, die dazu führen, daß Fibronektin nicht mehr auf der Tumorzelloberfläche gebunden werden kann. Zellkulturen von menschlichen Tumorzellen zeigen, daß bei intakter Fibronektin - Synthese die Tumorzelle nicht in der Lage ist, das synthetisierte Fibronektin an der Zelloberfläche zu binden (38,61,83,88). Für einige Karzinome konnte in vivo eine Verminderung des Oberflächen - Fibronektin - Gehaltes nachgewiesen werden (46,64,79).

Eine andere Möglichkeit ist, daß durch die erhöhte Freisetzung von Proteasen Fibronektin aus der Tumoroberfläche abgespalten wird. In vivo Versuche belegen, daß bereits eine milde Proteolyse ausreicht, um Fibronektin aus der Zelloberfläche freizusetzen (11).

Schließlich kann die erhöhte proteolytische Aktivität im Plasma von Karzinompatienten, ähnlich wie beim Fibrinogen, durch einen permanenten Fibronektin - Abbau zu einem erhöhten Fibronektin - Umsatz mit kompensatorisch erhöhten Fibronektin - Spiegeln führen (45).

Zumindest zeigt, der post-operativ rasche Wiederanstieg der Konzentrationen beider Proteine ein sehr ähnliches Verhalten und weist beide Proteine als akute Phasen - Proteine aus (Tab 4, Abb.5,6) Für einen erhöhten „turn over“ mit gesteigerter kompensatorischer Syntheserate in der Leber kann auch die von uns gefundene hoch signifikante Korrelation zwischen den Fibronektin - und den Fibrinogen - Werten sprechen (Abb.9). Auch die bei Karzinompatienten trotz fortgeschrittenen Krankheitsstadiums gefundenen niederen Fibronektin - Spiegel bei ausgedehnter Lebermetastasierung lassen sich so erklären (16,78).

Kapitel 6

Zusammenfassung

Karzinome können durch die Freisetzung von Proteasen aus der Zelloberfläche die Gerinnung und die Fibrinolyse aktivieren. Eine erhöhte Gerinnungs- und Fibrinolyse neigung bei Karzinompatienten mit einem vermehrten Fibrinogenumsatz ist die Folge.

In der vorliegenden Arbeit haben wir untersucht, inwieweit der sensible Fibrin(ogen)olyseparameter F-CB₃ bei Tumorpatienten erhöht ist. Darüber hinaus wurde auf Unterschiede zwischen nicht metastatisiertem und metastatisiertem Tumorstadium geachtet. Unter den selben Gesichtspunkten wurden die Plasma - Fibronectin - Spiegel ermittelt. Beide Parameter zeigen gegenüber einem Normalkollektiv eine Erhöhung bei Karzinompatienten. Diese war im metastasierten Stadium signifikant ausgeprägter als im metastasenfren Stadium. Dabei ist die Erhöhung der Werte und die Differenz zwischen den nicht metastasierten und den metastasierten Stadien beim F-CB₃ ausgeprägter als beim Fibronectin. Insbesondere F-CB₃ erscheint deshalb als Screening - Test und eventueller Verlaufsparemeter bei Karzinomkrankungen interessant. Die zusätzliche Bestimmung von FPA zeigt die bei Tumorpatienten bekannte Erhöhung dieses Parameters. Zwischen dem FPA, dem F-CB₃ und dem Fibronectin wurde eine hohe Korrelation gefunden. Dieser Befund lässt sich am ehesten im Rahmen des für Tumorzellen typischen vermehrten „ cell-surface-shatting “ deuten. Dabei werden sowohl Proteasen, die die Haemostase beeinflussen, als auch Fibronectin vermehrt aus der Tumorzelloberfläche freigesetzt. Eine gleichzeitig hohe Korrelation zwischen dem Fibrinogen und dem Fibronectin wird als möglicher Hinweis eines erhöhten Fibronectin „turn over “ im Rahmen der erhöhten proteolytischen Aktivität mit einer kompensatorisch erhöhten Fibronectin - Syntheserate gedeutet. Dieser Mechanismus würde dann dem erhöhten Metabolismus des Fibrinogens bei Tumorpatienten mit kompensatorisch erhöhten Fibrinogen - Werten ähneln.

Literaturverzeichnis

1. Alkjaersig, N. ; Fletscher, A.P. :
Catabolism and excretion of fibrinopeptid-A
Blood 60, 148 (1982)
2. Agster, H.R. :
Hämostaseparameter unter operativer Belastung:
Ein Vergleich von Tumorresektionen mit Operationen bei nicht
malignen Erkrankungen.
Inaugural - Dissertation, München 1985
3. Astedt, B. ; Svanberg, L. ; Nilsson, M. :
F.D.P.
Lancet II, 1312..(1972)
4. Astedt, B. ; Holmberg, L. :
Immunological identity of urokinase and ovarian carcinoma
plasminogen activator released in tissue culture.
Nature 261, 595 (1976)
5. Barthels, M. ; Poliwoda, H. :
Gerinnungsanalysen
Georg Thieme Verlag (1975)
6. Baum, B.J. ; Mc Donald, J.A. ; Crystal, R.C. :
Metabolic fate of the major cell surface protein of normal human
fibroblasts.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 79, 8 (1977)
7. Bilezikian, S. B. et al :
Radioimmunoassay of human fibrinopeptide B and kinetics of
fibrinopeptide cleavage by different enzymes.
J. of Clin. Invest. 56 , 438 (1975)
8. Black, P.H. :
Shedding from normal and cancer-cell surfaces.
New Eng. J. Med. 303, 1415 (1980)
9. Blombäck, B. ; Yamashino J. :
On the N-terminal amino acids in fibrinogen and fibrin.
Arkiv Kemi 12 , 299 (1958)
10. Blombäck, B. ; Blombäck, M. :
Purification of human and bovine fibrinogen.
Arkiv Kemi 10, 415 (1956)

11. Blumberg, P.M.; Robbins, P.W. :
Effects of proteases on activation of resting chick embryo-fibroblasts and on cell surface proteins.
Cell 6, 137 (1975)
12. Boggus, W.A. ; O'Brien, D.J. ; O'Meara, R.A. :
The coagulative factors of normal human and human cancer tissue.
Irish J. med.Sci. 6 , 131 (1963)
13. Brugaloras, A. ; Elias, E.G. ; Takita, H. ; Mink, I.B. ; Mittelman, A. ; Ambrus, J.L. :
Blood coagulation and fibrinolysis in patients with carcinoma of the lung.
J. Med. 4, 96 (1973)
14. Bürk, R.R. :
A factor from a transformed cell line that affects cell migration.
Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 70, 369, (1973)
15. Camiola, S.M. ; Markus, G. ; Evers, J.L. ; Hobika, G.H. ; De Pasquale, J.L. ; Grimaldi, J.P. :
Plasminogen activator content of neoplastic and benign human prostate tissue; Fibrin augmentation of an activator activity.
Int. J. Cancer 27, 191 (1981)
16. Choate, J.J. ; Mosher, D.F. :
Fibronectin concentration in plasma of patients with breast cancer, colon cancer and acute leukemia.
Cancer 51 , 1142 (1983)
17. Christman, J. ; Acs, G. :
Purification and characterization of a cellular fibrinolytic factor associated with oncogenic transformation: the plasminogen activator from SV-40-transformed hamster cells.
Biochim. Biophys. Acta 340 , 339 (1974)
18. Clifton, E. E. ; Grossi, C. E. :
Fibrinolytic activity of human tumors as measured by the fibrin plate method.
Cancer 8 , 1146 (1955)
19. Davidson, J.F. ; Mc Nicol, G.P. ; Frank, G.L. :
Plasminogen activator-producing tumour.
Br. Med. J. 1 , 88 (1969)

20. Davis, R.B. ; Theologides, A. ; Kennedy, B. J.
Comparative studies of blood coagulation and platelet aggregation in patients with cancer and non-malignant disease.
Ann. intern. Med. 71, 67 (1969)
21. Doolittle, R.F. :
Fibrinogen: Hauptakteur bei der Blutgerinnung
Spektrum der Wissenschaft 2,58 (1982)
22. Edgington, T.S. :
Activation of the coagulation system in association with neoplasia
J. Lab. Clin. Med. 96, 1 (1980)
23. Ehrismann, R. ; Chiquet, M. ; Turner, D. :
Mode of action of fibronectin with Clq and its collagen-like fragment (CLF).
FEBS Lett. 129 , 188 (1981)
24. Engvall, E. ; Ruoslahti, E. :
Binding of soluble form of fibroblast surface protein, fibronectin, to collagen.
Int.J. Cancer 20, 1 (1977)
25. Engvall, E. ; Ruoslahti, E. ; Miller, E.J. :
Affinity of fibronectin to collagens of different genetic types and to fibrinogen.
J. Exp. Med. 78, 1584 (1978)
26. Gollwitzer, R. ; Hafter, R. ; Timpl, R. ; Graeff, H. :
Immunological assay for a carboxyterminal peptide of the fibrinogen A α -chain in normal and pathological human sera.
Thrombos. Res. 11 , 859 (1977)
27. Gollwitzer, R. ; Timpl, R. ; Hafter, R. ; Graeff, H. :
Radioimmunoassay of a large cyanogen bromide peptide of human fibrinogen A α -chain.
Bibl. Haematol. 44, 114 (1978)
28. Gollwitzer, R. ; Timpl, R. :
Isolation and immunological characterization of a disulfide loop region in human fibrinogen α -chain.
FEBS Letters 58 , 269 (1975)
29. Graeff, H. ; Klaubert, W. ; KLaubert, E. ; Gollwitzer, R. ; v.Huyo, R. ; Hafter, R. :
Markerfunktion von quervernetzten Fibrinderivaten im Aszites beim Ovarialkarzinom: Ein Vergleich zu Aszites bei Leberzirrhose. Geburtshilfe und Frauenheilkunde 43 (1983)

30. Grinnell, F. ; Feld, M. ; Minter, D. :
Fibroblast adhesion to fibrinogen and fibrin-substrata:
requirement for cold-insoluble globulin (plasma fibronectin).
Cell 19 , 517 (1980)
31. Grinnell, F. ; Hays, D.G. :
Cell adhesion and spreading factor : similarity to cold-insoluble
globulin in human serum.
Exp. Cell. Res. 115 , 221 (1978)
32. Hafter, R. ; Graeff, H. :
Estimation of soluble fibrin monomer complexes by agarose gel
filtration.
Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis
Vol. 2 New York (1978)
33. Hayashi, M. ; Yamada, K.M. :
Differences in domain structures between plasma and cellular
fibronectins.
J. Biol. Chem. 21, 11292 (1981)
34. Hörmann, M. ; Seidl, M. :
Affinity chromatography on immobilized fibrin monomer III . The
fibrin affinity center of fibronectin.
Hoppe Seyter's Z. physiol. Chem. 361, 1449 (1980)
35. Hörmann, H. ; Gollwitzer, R. :
Analytische Untersuchungen über Rinderfibrinogen und -fibrin.
Z. Physiol. Chem. 21 , 346 (1966)
36. Holyoke, E.D. ; Frank, A.L. ; Weiss, L. :
Tumour thromboplastin activity in vivo.
Int. J. Cancer 9 ; 258 (1972)
37. Hoog, N.M. :
A comparison of membrane proteins of normal and transformed
cells by lactoperoxidase labeling.
Proc. Natl. Acad. Sci. 71, 489 (1974)
38. Hymann, E.G. ; Engvall, E. ; Ruoslahti, E. :
Concomitant loss of cell surface fibronectin and laminin from
transformed rat kidney cells.
J. Cell Biol. 88, 352 (1981)

39. Hynes, R.O. :
Alterations of cell surface proteins by viral transformation and by proteolysis.
Proc. Natl. Acad. Sci. 70 , 3170 (1973)
40. Klaubert, W. :
in press
41. Keski-Oja, J. ; Yamada, K. M. :
Isolation of an actin binding fragment of fibronectin.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 74,699 (1977)
42. Kockum, C. :
Radioimmunoassay of fibrinopeptid A - immunoreactivity of fibrinogen and fibrinogen-fragments.
Thromb. Res. 19, 639 (1980)
43. Kockum, C. :
Rapid radioimmunoassay of human fibrinopeptid A - removal of cross - reactive fibrinogen with bentonite.
Thromb. Res. 19, 589 (1980)
44. Kuusela, P. ; Bang, B. ; Hurme, M. ; Mäkelä, O. :
Reactivity of hybridoma antibodies with amniotic and plasma fibronectin.
Scand. J. Immunol. 12, 331 (1980)
45. Laurence, A. ; Lee, S. :
Fibronectin: Blood turnover in normal animals and during intravascular coagulation.
Blood 60, 558 (1982)
46. Lorke, D. ; Möller, P. :
The early appearance of fibronectin in the course of metastatic tumor growth in lymph nodes.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 109, 65 (1985)
47. Madsuda, M. ; Yamanaka, T. ; Madsuda, A. :
Distribution of fibronectin in plasma in liver disease.
Cinnica Chimica acta 118, 191 (1982)
48. Marder, V. J. ; Budzynski, A. Z. ; James, H. L. :
High molecular weight derivatives of human fibrinogen produced by plasmin III. Their NH₂-terminal amino acids and comparison with the "NH₂-terminal disulfide knot".
J. Biol. Chem. 247 , 4775 (1972)

49. Markus, G. ; Takita, H. ; Camiolo, S.M. ; Corasanti, J.G. ; Evers, J.L. ; Hobika, G.H. :
Content and characterization of plasminogen activators in human lung tumors and normal lung tissue.
Cancer Res. 40, 841 (1980)
50. Mc Connel, M.R. ; Blumberg, P.M. ; Rossov, P. W. :
Dimeric and high molecular weight forms of the large external transformation sensitive protein on surface of chick embryo fibroblasts.
J. Biol. Chem. 253 , 7522 (1978)
51. Morrison, P.R. ; Edsall, J. T. ; Miller, S. G. :
Preparation and properties of serum and plasma proteins XVIII. The separation of purified fibrinogen from fraction I of human plasma.
J. Am. Chem. Soc. 70 , 3103 (1948)
52. Mosesson, M.W. ; Amrani, D.L. :
The structure of plasma fibronectin.
Blood 56 , 145 (1980)
53. Mosesson, M. W. ; Unfleet, R.A. :
The cold-insoluble globulin of human plasma.
Biochim. Biophys. Acta 386, 509 (1975)
54. Mosher, D. F. ; Proctor, R. A. :
Binding and factor XIIIa-mediated cross-linking of a 27-kilodalton fragment of fibronectin to *Staphylococcus aureus*.
Science 209 , 927 (1980)
55. Mosher, D. F. ; Furcht, L.T. :
Fibronectin: Review of its structure and possible functions.
J. Invest. Derm. 77, 175 (1981)
56. Mosher, D. F. :
Cross linking of cold-insoluble globulin by fibrin-stabilizing factor.
J. Biol. Chem. 250, 6614 (1975)
57. Mosher, D.F. ; Schad, P.E. ; Vann, J.M. :
Cross-linking of collagen and fibronectin by factor XIIIa
J. Biol. Chem. 255, 1181 (1980)
58. Mosher, D.F. ; Williams, E.M. :
Fibronectin concentration is decreased in plasma of severely ill patients with disseminated intravascular coagulation.
J. Lab. Clin. Med. 91 , 729 (1978)

59. Nagy, B. ; Ban, J. ; Brdar, B. :
Fibrinolysis associated with human neoplasia: Production of plasminogen activator by human tumours.
Int. J. Cancer 19 , 614 (1977)
60. Nossel, H.L. :
Radioimmunoassay of fibrinopeptides in relation to intravascular coagulation and thrombosis.
New Engl.J.Med. 296 ; 428 (1976)
61. Olden, K. ; Jamada, K.M. :
Mechanism of the decrease in the major cell surface protein of chick embryo fibroblasts after transformation.
Cell 11 , 967 (1977)
62. O'Meara, R.A.Q. :
Coagulation properties of cancers.
Irish J. Med. Sci. 394 , 474 (1958)
63. O'Meara, R.A.Q. ; Thornes, R. D. :
Some properties of the cancer coagulative factor.
Irish J. Med. Sci. 423, 106 (1961)
64. Ossowski, I. ; Unkeless, J.C. ; Tobia, A. ; Quigley, J.P. ; Rifkin, D.B. ; Reich, E. :
An enzymatic function associated with transformation of fibroblasts by oncogenic viruses. II. Mammalian fibroblast cultures transformed by DHA and RNA tumour viruses.
J. exp. Med. 137, 112 (1973)
65. Peuscher, F.W. ; Cleton, F.J. ; Armstrong, L. ; Stoepman, E.A. ; Mourik, J.A. ; Aken, W.G. :
Significance of plasma fibrinopeptid A (fpa) in patients with malignancy.
J. Lab. Clin. Med. 96, 5 (1980)
66. Phillips, L.L. ; Skrodelis, V. ; Furey, C.A. :
The fibrinolytic enzyme system in prostatic cancer.
Cancer 12 , 721 (1959)
67. Quigley, J.P. ; Ossowski, I. ; Reich, E. :
Plasminogen, the serum proenzyme activated by factors from cells transformed by oncogenic viruses.
J. Biol. Chem. 247 , 4306 (1974)

68. Rasche, H. :
Blutgerinnungsfaktor XIII und Fibrinstabilisierung.
Klin. Wschr. 53, 1137 (1975)
69. Rennie, J.A.N. ; Ogston, D. :
Fibrinolytic activity in malignant disease
J. clin. Path. 28,872 (1975)
70. Rickles, F.R. ; Edwards, R.L. ; Barb, C. ; Cronlund, M. :
Abnormalities of blood coagulation in patients with cancer.
Cancer 51, 301 (1983)
71. Rifkin, D. ; Loeb, J. ; Moore, G. ; Reich, E. :
Properties of plasminogen activators formed by neoplastic human
cell cultures.
J. Exp. Med. 139, 1317 (1974)
72. Ruoslathi, E. ; Engvall, E. :
Immunochemical and collagen-binding properties of fibronectin.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 312, 178 (1978)
73. Ruoslathi, E. ; Vaheri, A. :
Fibroblast surface antigen : a new serum protein.
Biochem. Biophys. Acta 332, 335 (1973)
74. Saba, T.M. ; Jaffe, E. :
Plasma fibronectin : its synthesis by vascular endothelial cells and
role in cardiopulmonary integrity after trauma as related to
reticularendothelial function.
Am. J. Med. 6 577 (1980)
75. Sekigucki, K. ; Hakomori, S. J. :
Functional domain structure of fibronectin.
Proc. natn. Acad. Sci. USA 77, 2661 (1980)
76. Siegenthaler, W. :
Differentialdiagnose Innerer Krankheiten
Thieme Verlag Stuttgart (1984)
77. Slichter, S. J. ; Harker, L. A. :
Hemostasis in malignancy.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 230, 252 (1974)
78. Stathakis, N. ; Fountas, A. ; Tsianos, E. :
Plasma fibronectin in normal subjects and in various disease states.
J. Clin. Pathol. 34, 504 (1981)

79. Stenman, S. ; Vaheri, A. :
Fibronectin in human solid tumors.
Int. J. Cancer 27, 427 (1981)
80. Svanberg, L. :
Thromboplastic activity of human ovarian tumours.
Thromb. Res. 6; 307 (1975)
81. Unkeless, J. ; Dano, K. ; Kellerman, G. M. ; Reich, E. :
Fibrinolysis associated with oncogenic transformation.
J. Biol. Chem. 249, 4295 (1974)
82. Vaheri, A. ; Rouslahti, E. :
Disappearance of a major cell type specific surface glycoprotein
antigen after transformation by rous sarcoma virus.
Int. J. Cancer 13 , 579 (1974)
83. Vaheri, A. ; Rouslahti, E. :
Fibroblast surface antigen produced but not retained by virus
transformed human cells.
J. Exp. Med. 142 , 530 (1975)
84. Vartio, T. ; Vaheri, A. ; De Petro, G. ; Barlati, S. :
Fibronectin and its proteolytic fragments.
Invasion Metastasis 3, 125 (1983)
85. Weber, E. :
Grundriß der biologischen Statistik für Naturwissenschaftler,
Landwirte und Mediziner.
Fischer, Stuttgart (1967)
86. Yamada, K.M. ; Kennedy, D.W. :
Fibroblast cellular and plasma fibronectins are similar but not
identical.
J. Cell. Biol. 80, 492 (1979)
87. Yoda, Y. ; Abe, T. :
Fibronopeptide A (FPA) level and fibrinogen kinetics in patients
with malignant disease.
Thromb. Haemostas. 46, 706 (1981)
88. Zardi, L. ; Cecconi, C. ; Barbieri, O. ; Carnemolla, B. ; Picca, M. ;
Santi, L. :
Concentration of fibronectin in plasma of tumor-bearing mice and
synthesis by Ehrlich ascites tumor cells.
Cancer Res. 39, 3774 (1979)

Danksagung

Herrn Professor Dr. med. W. Wilmanns danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und des Arbeitsplatzes.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. W. Klaubert für die zahlreichen Anregungen bei der Durchführung der experimentellen Untersuchungen, für die hervorragende Betreuung und für die Beratung bei der Abfassung der Arbeit.

Für die Hilfe bei der Bestimmung des F-CB₃ möchte ich mich ganz herzlich bei Frau Dr. rer.nat. R. Gollwitzer bedanken.

Lebenslauf

7. 5. 1960 Geboren in Leipzig als Tochter des Diplomingenieurs
Günther Peruth und seiner Frau Ursula Peruth, geb.
Krause.
- 1966 - 1970 Besuch der Volksschule in München
- 1970 - 1979 Besuch des Städtischen-St.-Anna-Gymnasiums in
München (naturwissenschaftlicher Zweig)
27. 6. 1979 Abitur im Städtischen-St.-Anna-Gymnasium München
in Mathematik, Biologie, Deutsch und Religion
- 1979 - 1985 Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-
Universität München
- 1981 Ärztliche Vorprüfung
- 1982 1.Abschnitt der ärztlichen Prüfung
- 1984 2.Abschnitt der ärztlichen Prüfung
- 15.11. 1985 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
- Famulaturen: Krankenhaus Nymphenburg ; Abteilung für Innere
Medizin ; Dr. med. J.M. Venhofen
Städtisches Krankenhaus München - Harlaching ;
Abteilung für Kinderheilkunde ; Dr. med. P. Klose
Praxis für Gynäkologie , Dr. med. R. Wittmann
- Praktisches Jahr:
- | | |
|----------------|--|
| Chirurgie | Kreiskrankenhaus Starnberg ;
Professor Dr. W. Grill |
| Gynäkologie | Klinikum München - Großhadern ;
Professor Dr. H. Hepp |
| Innere Medizin | Klinikum München - Großhadern ;
Professor Dr. Riecker |

